

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-530325

(P2018-530325A)

(43) 公表日 平成30年10月18日 (2018. 10. 18)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/113 (2010. 01)	C 1 2 N 15/113 1 2 O Z	4 C O 5 7
C O 7 H 21/04 (2006. 01)	C 1 2 N 15/113 Z N A	4 C O 8 6
A 6 1 K 31/7088 (2006. 01)	C O 7 H 21/04	
A 6 1 P 43/00 (2006. 01)	A 6 1 K 31/7088	
A 6 1 P 9/12 (2006. 01)	A 6 1 P 43/00 1 O 5	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 233 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2018-516525 (P2018-516525)	(71) 出願人	595104323
(86) (22) 出願日	平成28年10月7日 (2016. 10. 7)		アイオーニス ファーマシューティカルズ
(85) 翻訳文提出日	平成30年5月10日 (2018. 5. 10)		, インコーポレーテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2016/056068		I o n i s P h a r m a c e u t i c a
(87) 国際公開番号	W02017/062816		l s, I n c.
(87) 国際公開日	平成29年4月13日 (2017. 4. 13)		アメリカ合衆国カリフォルニア州9201
(31) 優先権主張番号	62/238, 831		O, カールズバッド, ガゼル コート 2
(32) 優先日	平成27年10月8日 (2015. 10. 8)		8 5 5
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100140109
			弁理士 小野 新次郎
		(74) 代理人	100118902
			弁理士 山本 修
		(74) 代理人	100106208
			弁理士 宮前 徹
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 アンジオテンシノーゲンの発現を調節するための化合物及び方法

(57) 【要約】

必要とする個体において、A G Tを調節し、かつR A A S経路関連疾患、障害及び／または病態を調節するための修飾オリゴヌクレオチドを含む、組成物及び化合物が本明細書において開示される。高血圧などの個体におけるR A A S経路関連疾患、障害及び／または病態は、A G Tに対して標的化されたアンチセンス化合物の投与により、治療、改善、遅延または予防することができる。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 1 の核酸塩基 2 2 5 0 ～ 2 3 3 7 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 1 2 ～ 3 0 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 8 0 % 相補的である、化合物。

【請求項 2】

配列番号 1 の核酸塩基 2 2 8 1 ～ 2 3 0 0 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 1 2 ～ 3 0 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 8 0 % 相補的である、化合物。

10

【請求項 3】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、1 5 ～ 3 0、1 5 ～ 2 5、1 5 ～ 2 4、1 6 ～ 2 4、1 7 ～ 2 4、1 8 ～ 2 4、1 9 ～ 2 4、2 0 ～ 2 4、1 9 ～ 2 2、2 0 ～ 2 2、1 6 ～ 2 0、1 6 または 2 0 個の結合されたヌクレオシドからなる、請求項 1 または 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、配列番号 1 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 1 0、少なくとも 1 1、少なくとも 1 2、少なくとも 1 3、少なくとも 1 4、少なくとも 1 5、少なくとも 1 6、少なくとも 1 7、少なくとも 1 8、少なくとも 1 9 または少なくとも 2 0 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を含む、請求項 1 または 2 に記載の化合物。

20

【請求項 5】

前記修飾オリゴヌクレオチドの前記核酸塩基配列が、配列番号 1 に対して、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 % または 1 0 0 % 相補的である、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 6】

1 2 ～ 3 0 個の結合されたヌクレオシドを含み、かつ配列番号 1 4 ～ 2 0 5 1 の核酸塩基配列のうちの少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 1 0、少なくとも 1 1、少なくとも 1 2、少なくとも 1 3、少なくとも 1 4、少なくとも 1 5、少なくとも 1 6、少なくとも 1 7、少なくとも 1 8、少なくとも 1 9 または 2 0 個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物。

30

【請求項 7】

1 2 ～ 3 0 個の結合されたヌクレオシドを含み、かつ配列番号 4 6、5 3 ～ 5 4、6 1、6 8、7 6、8 3、8 5、9 3、9 6 ～ 9 7、1 0 9、1 2 7、1 2 9 ～ 1 3 0、1 3 2、1 3 4 ～ 1 5、1 3 7 ～ 3 9、1 4 2、1 6 3 ～ 1 7 2、1 8 0 ～ 1 8 4、1 8 6、1 8 9、2 3 4、2 3 6、2 3 8 ～ 2 3 9、2 6 7、3 1 3、4 1 1、4 5 2、4 6 3 ～ 4 7 0、4 7 5 ～ 4 7 8、4 8 0、5 0 0 ～ 5 0 3、5 1 2、5 1 7 ～ 5 1 8、5 2 4 ～ 5 2 6、6 5 4、6 8 9、7 0 2、7 2 5 ～ 7 2 6、7 2 8、7 3 8、7 7 9、7 8 6 ～ 7 8 7、8 0 0、8 0 8、8 1 0 ～ 8 1 1、8 2 5、8 6 5、8 6 8、8 8 9、8 9 4、9 0 3、9 0 5、9 0 9、9 5 4、9 6 6、1 0 1 1、1 0 1 5、1 0 2 1、1 0 2 4、1 0 8 0、1 0 8 5、1 2 5 8 ～ 1 2 5 9、1 2 6 1 ～ 1 2 6 2、1 2 9 3 ～ 1 2 9 4、1 2 9 9、1 3 2 5、1 4 7 0、1 4 7 2 ～ 1 4 7 3、1 5 2 2、1 5 4 2、1 6 0 4、1 6 2 3 ～ 1 6 2 4、1 6 6 7、1 6 7 0、1 6 8 2 ～ 1 6 8 3、1 6 8 7、1 7 0 0、1 7 0 3 ～ 1 7 0 4、1 7 0 8、1 7 1 4、1 7 1 6、1 7 1 9 ～ 1 7 2 0、1 7 2 4 ～ 1 7 2 6、1 7 2 9 ～ 1 7 3 0、1 8 2 7、1 9 3 6、1 8 4 3 ～ 1 8 4 4、1 8 4 6、1 8 8 6、1 8 9 3 ～ 1 8 9 4、1 9 1 4、1 9 2 3、1 9 2 5、1 9 3 2、1 9 7 9、1 9 8 6、1 9 8 8、1 9 9 0、2 0 0 3、2 0 1 5、2 0 1 8、2 0 2 0、2 0 2 7 ～ 2 0 2 8、2 0 3 5、2 0 3 7、2 0 3 9、2 0 4 4 の核酸塩基配列のうちの少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 1 0、少なくとも 1 1、少なくとも 1 2、少なくとも 1 3

40

50

、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19または20個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物。

【請求項8】

12～30個の結合されたヌクレオシドを含み、かつ配列番号238、1714、1719、1893～1894、1914、1923、1925、2003の核酸塩基配列のうちの少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19または20個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物。

10

【請求項9】

12～30個の結合されたヌクレオシドを含み、かつ配列番号1914の核酸塩基配列のうちの少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19または20個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物。

【請求項10】

一本鎖である、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項11】

二本鎖である、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

20

【請求項12】

少なくとも1つのヌクレオシド間結合が修飾ヌクレオシド間結合である、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項13】

少なくとも1つの修飾ヌクレオシド間結合がホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項12に記載の化合物。

【請求項14】

各修飾ヌクレオシド間結合がホスホロチオエートヌクレオシド間結合である、請求項12に記載の化合物。

【請求項15】

前記修飾オリゴヌクレオチドが少なくとも1つの修飾糖を含む、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

30

【請求項16】

少なくとも1つの修飾糖が二環式糖である、請求項15に記載の化合物。

【請求項17】

少なくとも1つの修飾糖が、2'-O-メトキシエチル、拘束エチル(cEt)、3'-フルオロ-HNAまたは4'-(CH₂)_n-O-2'架橋(式中、nは1または2である)を含む、請求項15に記載の化合物。

【請求項18】

少なくとも1つのヌクレオシドが修飾核酸塩基を含む、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

40

【請求項19】

前記修飾核酸塩基が5-メチルシトシンである、請求項18に記載の化合物。

【請求項20】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、12～30個の結合されたヌクレオシドからなり、
a. 複数の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、
b. 複数の結合されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメントと、
c. 複数の結合されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメントとを含み、
前記ギャップセグメントは、前記5'ウイングセグメントと前記3'ウイングセグメントとの間に配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、修飾糖を含む、先行請求

50

項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 21】

前記修飾オリゴヌクレオチドが 16～20 個の結合された核酸塩基からなる、請求項 20 に記載の化合物。

【請求項 22】

前記修飾オリゴヌクレオチドが少なくとも 1 つのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を更に含む、請求項 20 に記載の化合物。

【請求項 23】

前記修飾オリゴヌクレオチドが修飾核酸塩基を更に含む、請求項 20 に記載の化合物。

【請求項 24】

前記修飾オリゴヌクレオチドが、
a. 10 個の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、
b. 3～5 個の結合されたヌクレオシドからなる 5' ウイングセグメントと、
c. 3～5 個の結合されたヌクレオシドからなる 3' ウイングセグメントと
を含む、16～20 個の結合されたヌクレオシドからなり、
前記ギャップセグメントは、前記 5' ウイングセグメントと前記 3' ウイングセグメントとの間に配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、2'-O-メトキシエチル糖を含み、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合を含み、各シトシン残基は、5-メチルシトシンである、請求項 20 に記載の化合物。

【請求項 25】

次式： $mCes\ Aes\ mCes\ Aes\ Aes\ Ads\ mCds\ Ads\ Ads\ Gds\ mCds\ Tds\ Gds\ Gds\ Tds\ mCes\ Ges\ Ges\ Tes\ Te$ （配列番号 1914）；

（式中、

A = アデニン、

mC = 5'-メチルシトシン

G = グアニン、

T = チミン、

e = 2'-O-メトキシエチル修飾ヌクレオシド、

d = 2'-デオキシヌクレオシド、及び

s = ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である）

に従う修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物。

【請求項 26】

コンジュゲート基を更に含む、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 27】

前記コンジュゲート基が GalNAc 部分である、請求項 26 に記載の化合物。

【請求項 28】

配列番号 1914 のうちの少なくとも 8 個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、20 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、前記修飾オリゴヌクレオチドは、

a. 10 個の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、

b. 5 個の結合されたヌクレオシドからなる 5' ウイングセグメントと、

c. 5 個の結合されたヌクレオシドからなる 3' ウイングセグメントと、

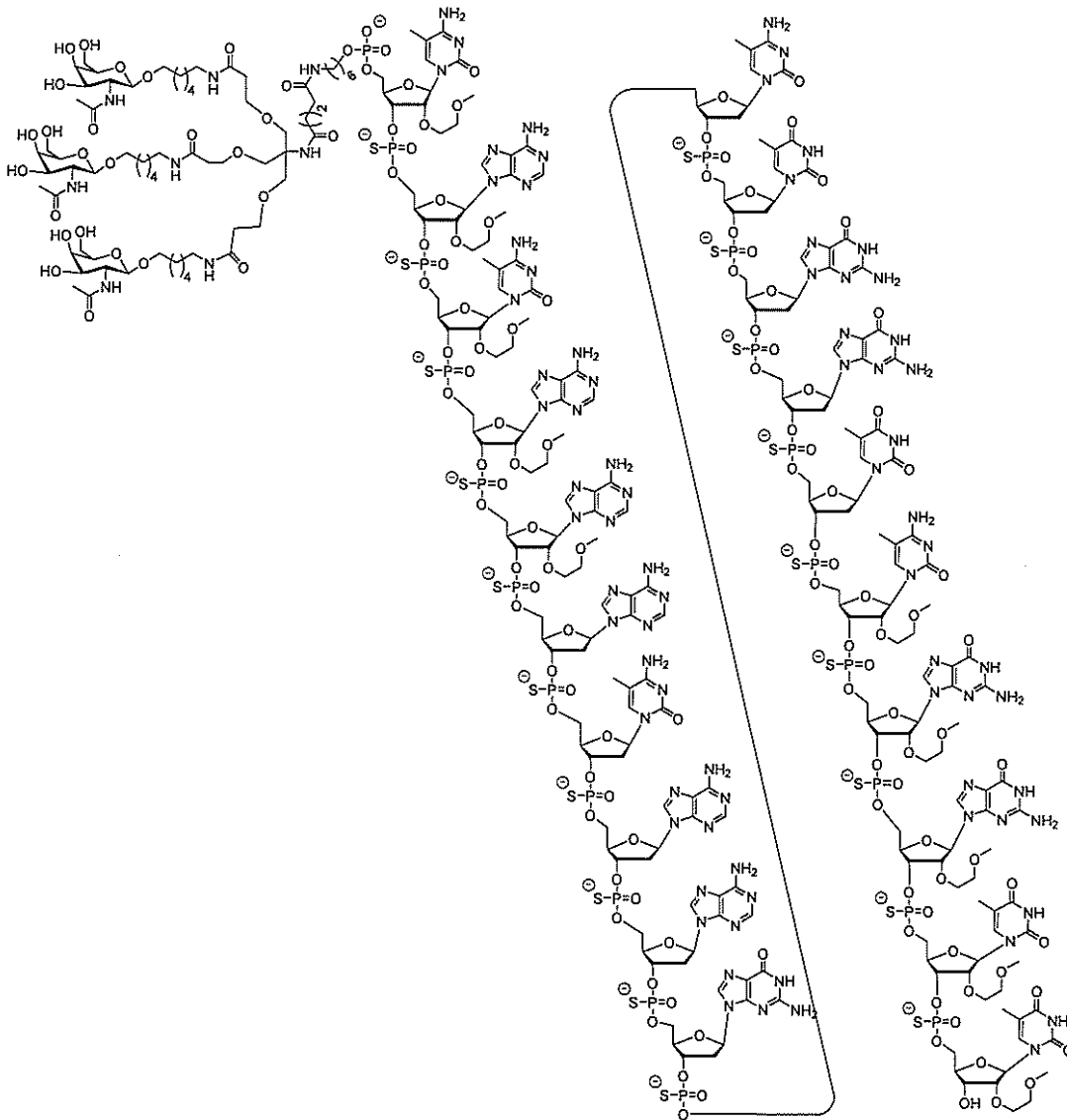
d. GalNAc コンジュゲートとを含み、

前記ギャップセグメントは、前記 5' ウイングセグメントと前記 3' ウイングセグメントとの間に配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、2'-O-メトキシエチル糖を含み、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合を含み、各シトシン残基は、5-メチルシトシンである、化合物。

【請求項 29】

次式に従う修飾オリゴヌクレオチド。

【化 1】



10

20

30

【請求項 3 0】

先行請求項のいずれか一項に記載の化合物もしくは修飾オリゴヌクレオチドまたはその塩と、薬学的に許容される担体または希釈剤とを含む、組成物。

【請求項 3 1】

治療法に使用するための、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物または修飾オリゴヌクレオチドを含む、組成物。

【請求項 3 2】

薬剤の調製に使用するための、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物または修飾オリゴヌクレオチドを含む、組成物。

40

【請求項 3 3】

細胞、組織、器官または動物において A G T を減少させるのに使用するための、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物または修飾オリゴヌクレオチド。

【請求項 3 4】

動物における R A A S 経路関連疾患、障害及び／または病態に関連する疾患、障害または病態の治療、予防、改善または進行遅延に使用するための、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物または修飾オリゴヌクレオチド。

【請求項 3 5】

前記疾患、障害または病態が高血圧である、請求項 3 4 に記載の化合物または修飾オリゴヌクレオチド。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表

本出願は、電子形式の配列表とともに出願されている。配列表は、2016年10月3日に作成されたサイズ456kbのBIOL0270W0SEQ__ST25.txtと題するファイルとして提出される。この電子形式の配列表中の情報は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0002】

本発明は、動物におけるRAS経路関連疾患、障害または病態を調節する目的で、アンジオテンシノーゲン（AGT）の発現を調節するための化合物、組成物及び方法を提供する。本発明はまた、AGT阻害薬を動物に投与することによって、高血圧及び器官障害を軽減するための化合物、組成物及び方法を提供する。

【背景技術】

【0003】

SERPINA8またはANHUとしても知られるアンジオテンシノーゲン（AGT）は、セルピンファミリーのメンバーであり、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系（RAS）の一構成要素である。AGTは、主に肝臓で産生された後、循環系中に放出され、そこで、レニンによりアンジオテンシンIに変換される。アンジオテンシンIは、続いて、アンジオテンシン変換酵素（ACE）によって、アンジオテンシンIIに変換される。アンジオテンシンIIは、血管収縮をもたらすペプチドホルモンであり、それにより血圧を上昇させることができる。アンジオテンシンIIはまた、副腎皮質からのホルモンアルドステロンの分泌を刺激する。アルドステロンは、腎臓にナトリウム及び水の再吸収を増加させるように働き、これにより、体内の体液量が増加し、結果として、血圧の上昇が生じ得る。RAS経路の過剰な刺激または活性は、高い血圧につながる場合がある。慢性的な高い血圧は、高血圧として知られている。高血圧の対象では、この血圧の高さにより、心臓の働きを増大させて血液を血管に循環させる必要がある。

【0004】

世界保健機関（WHO）は、高血圧を心臓血管疾患の主原因であるとしている。高血圧は、寿命短縮、慢性腎疾患、脳卒中、心筋梗塞、心不全、血管の動脈瘤（例えば、大動脈瘤）、末梢動脈疾患、心臓障害（例えば、心拡大または心肥大）及び他の心臓血管に関連する疾患、障害及び／または病態などの様々な疾患、障害及び病態の主要危険因子である。

【0005】

治療抵抗性高血圧（RHTN）、すなわち、薬物治療に耐性のある高血圧の罹患率は、集団の高齢化及び肥満症の発生率の絶え間ない増加により、数値が着実に増加している。米国における約1000万人のRHTN成人という現在の予測は、増加していくだろうと考えられている。

【0006】

抗高血圧薬、腎デナベーション、圧受容器活性化療法、食生活の改善及び生活習慣の改善は、高血圧を軽減し、高血圧に関連する疾患、障害及び／または病態を軽減し得る（Paulis et al., Nat Rev Cardiol, 2012, 9:276-285）。しかしながら、高血圧の治療に対して現在承認されている治療法には、全高血圧患者のうちのかなりの部分が十分な血圧制御を達成できていないため、限界がある。例えば、レニン-アンジオテンシン系（RAS）経路の一部を標的にするACE阻害薬及びアンジオテンシン受容体拮抗薬（ARB）などの薬物は、RAS経路を阻害する能力に限りがある（Nobakht et al., Nat Rev Nephrol, 2011, 7:356-359）。更に、ACE阻害薬などの特定の抗高血圧薬は、患者の腎機能を弱める可能性があるため、腎疾患を伴う高血圧患者には禁忌である。

【0007】

したがって、R A A S 経路を阻害し、高血圧を治療するための代替治療を見出す必要がある。アンチセンス技術は、特定の遺伝子産物の発現を減少させるのに有効な手段として注目されている。しかしながら、A G T を標的にする初期のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、限定的な利益しかもたらさないか（W O 1 9 9 7 / 3 3 6 2 3）、非ヒト A G T を標的にしている（W O 2 0 1 4 / 0 1 8 9 3 0）。本明細書の化合物及び組成物は、ヒト A G T を阻害する、非常に強力かつ忍容性のある新規化合物を提供するものであり、これらはまた、ヒト対象における使用に適している。更に、本明細書に開示される化合物は、コンジュゲート法を使用してアンチセンス化合物を肝臓に送達し、その腎臓内分布及び活性を制限することにより、高カリウム血症及び／または腎疾患のリスクのある患者において、従来の R A S 拮抗薬の忍容性問題を低減すると予想される。

10

【0008】

限定するものではないが、特許、特許出願、記事、書籍及び論文を含む、本出願に引用される全ての文献または文献の一部は、本明細書で考察される文献の一部について、またその全体が参照により明示的に本明細書に援用される。

【発明の概要】

【0009】

動物において A G T mRNA 及び／またはタンパク質のレベルを低下させるための組成物、化合物及び方法が本明細書で提供される。

【0010】

本明細書で開示される特定の実施形態は、A G T をコードする核酸配列を標的にする修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物を提供する。特定の実施形態において、化合物は、配列番号 1 ～ 6 のうちのいずれかの核酸塩基配列に示される A G T 配列を標的にする。

20

【0011】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 1 の核酸塩基 2 2 5 0 ～ 2 3 3 7 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 1 2 ～ 3 0 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 8 0 % 相補的である、化合物を提供する。

【0012】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 1 の核酸塩基 2 2 8 1 ～ 2 3 0 0 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 1 2 ～ 3 0 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 8 0 % 相補的である、化合物を提供する。

30

【0013】

本明細書で開示される特定の実施形態は、1 2 ～ 3 0 個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号 4 6、5 3 ～ 5 4、6 1、6 8、7 6、8 3、8 5、9 3、9 6 ～ 9 7、1 0 9、1 2 7、1 2 9 ～ 1 3 0、1 3 2、1 3 4 ～ 1 5、1 3 7 ～ 3 9、1 4 2、1 6 3 ～ 1 7 2、1 8 0 ～ 1 8 4、1 8 6、1 8 9、2 3 4、2 3 6、2 3 8 ～ 2 3 9、2 6 7、3 1 3、4 1 1、4 5 2、4 6 3 ～ 4 7 0、4 7 5 ～ 4 7 8、4 8 0、5 0 0 ～ 5 0 3、5 1 2、5 1 7 ～ 5 1 8、5 2 4 ～ 5 2 6、6 5 4、6 8 9、7 0 2、7 2 5 ～ 7 2 6、7 2 8、7 3 8、7 7 9、7 8 6 ～ 7 8 7、8 0 0、8 0 8、8 1 0 ～ 8 1 1、8 2 5、8 6 5、8 6 8、8 8 9、8 9 4、9 0 3、9 0 5、9 0 9、9 5 4、9 6 6、1 0 1 1、1 0 1 5、1 0 2 1、1 0 2 4、1 0 8 0、1 0 8 5、1 2 5 8 ～ 1 2 5 9、1 2 6 1 ～ 1 2 6 2、1 2 9 3 ～ 1 2 9 4、1 2 9 9、1 3 2 5、1 4 7 0、1 4 7 2 ～ 1 4 7 3、1 5 2 2、1 5 4 2、1 6 0 4、1 6 2 3 ～ 1 6 2 4、1 6 6 7、1 6 7 0、1 6 8 2 ～ 1 6 8 3、1 6 8 7、1 7 0 0、1 7 0 3 ～ 1 7 0 4、1 7 0 8、1 7 1 4、1 7 1 6、1 7 1 9 ～ 1 7 2 0、1 7 2 4 ～ 1 7 2 6、1 7 2 9 ～ 1 7 3 0、1 8 2 7、1 9 3 6、1 8 4 3 ～ 1 8 4 4、1 8 4 6、1 8 8 6、1 8 9 3 ～ 1 8 9 4、1 9 1 4、1 9 2 3、1 9 2 5、1 9 3 2、1 9 7 9、1 9 8 6、1 9 8 8、1 9 9 0、2 0 0 3、

40

50

2015、2018、2020、2027～2028、2035、2037、2039、2044の核酸塩基配列のいずれかのうちの少なくとも8個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物を提供する。

【0014】

本明細書で開示される特定の実施形態は、次式： $mCes\ Aes\ mCes\ Aes\ Aes\ Ads\ mCds\ Ads\ Ads\ Gds\ mCds\ Tds\ Gds\ Gds\ Tds\ mCes\ Ges\ Ges\ Tes\ Te$ （配列番号1914）（式中、Aはアデニンであり、mCは5'-メチルシトシンであり、Gはグアニンであり、Tはチミンであり、eは2'-O-メトキシエチル修飾ヌクレオシドであり、dは2'-デオキシヌクレオシドであり、sはホスホロチオエートヌクレオシド間結合である）に従う修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物を提供する。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAcコンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノ-（THA）-C6-GalNAc₃コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ-（THA）-C6-GalNAc₃コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

10

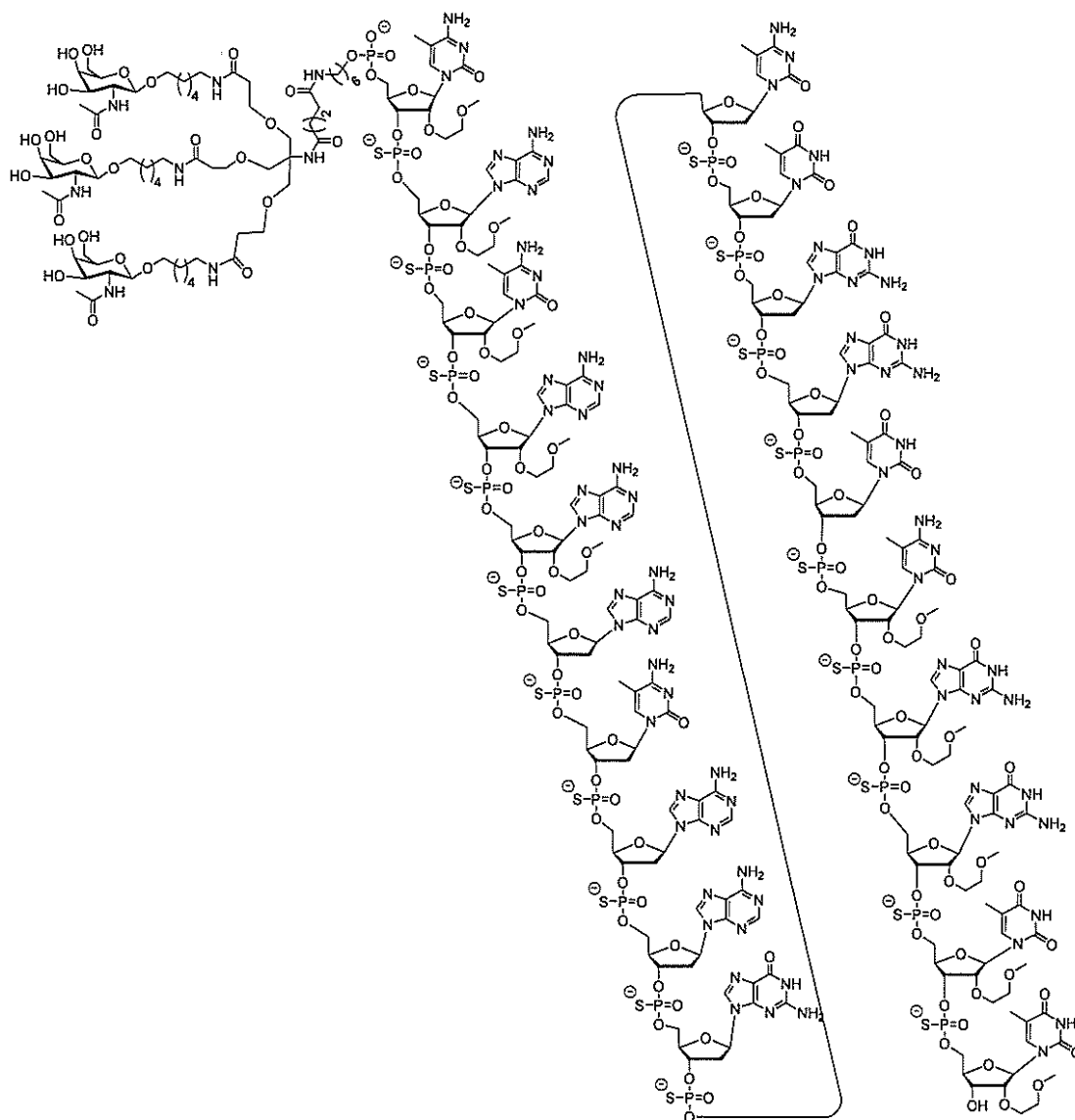
【0015】

本明細書で開示される特定の実施形態は、次式を有する修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物を提供する。

【0016】

20

【化 1】



10

20

30

【発明を実施するための形態】

【0017】

前述の全般的な説明及び以下の詳細な説明は、いずれも例示的かつ説明的なものにすぎず、特許請求される本発明を制限するものではないことを理解されたい。本明細書中、単数形の使用は、特に明記しない限り、複数を含む。本明細書で使用されるとき、「or（または）」の使用は、別の記載がない限り、「and/or（及び／または）」を意味する。更に、「including（含む）」という用語ならびに「includes（含む）」及び「included（含む）」などの他の形の使用は、限定的ではない。また、「要素」または「成分」などの用語は、特に明記しない限り、1単位を含む要素及び成分と、1つを超える下位単位を含む要素及び成分との両方を包含する。

40

【0018】

本明細書で使用される段落見出しは、単に構成上の目的であり、記載される主題の限定を意図するものではない。限定するものではないが、特許、特許出願、記事、書籍及び論文を含む、本出願に引用される全ての文献または文献の一部は、本明細書で考察される文献の一部について、またその全体が参照により明示的に本明細書に援用される。

【0019】

定義

特定の定義が提供されない限り、本明細書に記載される分析化学、有機合成化学及び医

50

薬製薬化学に関して使用される用語ならびにこれらの手順及び技術は、当該技術分野においてよく知られており、一般的に使用されるものである。化学合成及び化学分析には、標準的技術を使用することができる。許容される場合、本開示を通して参照される全ての特許、出願、公開出願、ならびに他の公開物、国立生物工学情報センター（NCBI）などのデータベースを通じて取得可能なG E N B A N Kアクセッション番号及び関連する配列情報、ならびに他のデータは、本明細書で考察される文献の一部について、またその全体が参照により本明細書に援用される。

【0020】

特に指示がない限り、次の用語は、次の意味を有する。

【0021】

「2'-O-メトキシエチル」（2'-MOE及び2'-O(CH₂)₂-OCH₃も同様）は、フロシル環の2'位のO-メトキシエチル修飾を指す。2'-O-メトキシエチルで修飾された糖は、修飾糖である。

【0022】

「2'-O-メトキシエチルヌクレオチド」は、2'-O-メトキシエチル修飾糖部分を含むヌクレオチドを意味する。

【0023】

「5-メチルシトシン」とは、5'位にメチル基が結合した修飾されたシトシンを意味する。5-メチルシトシンは、修飾核酸塩基である。

【0024】

「約」は、値の±10%以内を意味する。例えば、「マーカーが約50%増加し得る」と記載される場合、それは、そのマーカーが45%～55%増加し得ることを意味する。

【0025】

アンジオテンシンIIの再活性化としても知られる「ACEエスケープ」は、血漿アンジオテンシンIIレベルを確実に抑制するための現在利用可能なACE阻害薬の治療が効かなくなること指す。ACE阻害中の血漿アンジオテンシンIIレベルの上昇は、アンジオテンシンIをアンジオテンシンに変換する他の酵素によって生じる。このアンジオテンシンIIレベルの不完全な遮断は、ACE阻害薬による一部の高血圧の対象の効果的な治療を妨げている。アンジオテンシン受容体拮抗薬（ARB）も同様に、AT1受容体以外の他の受容体がアンジオテンシン代謝産物に結合することから、ACEエスケープの影響を受け得る。

【0026】

「活性薬剤」または「薬剤」とは、個体に投与したときに治療上の利益をもたらす、医薬組成物中の1つ以上の物質を意味する。例えば、特定の実施形態において、AGTに対して標的化されたアンチセンスオリゴヌクレオチドは、活性薬剤である。

【0027】

「活性標的領域」または「標的領域」とは、1つ以上の活性アンチセンス化合物が標的とする領域を意味する。

【0028】

「活性アンチセンス化合物」とは、標的核酸レベルまたはタンパク質レベルを低下させるアンチセンス化合物を意味する。

【0029】

「同時に投与される」は、患者において2つの剤の両方の薬理作用が同時に顕在化される任意の方法での2つの剤の共投与を指す。同時投与は、両方の剤が、単一の医薬組成物、同じ剤形または同じ投与経路で投与されることを必要としない。両方の剤の作用が同時に顕在化される必要はない。作用は、ある期間にわたって重複しているだけでよく、同じ時間幅を有する必要はない。

【0030】

「投与すること」とは、個体に薬剤を提供することを意味し、医療専門家による投与及び自己投与を含むが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0031】

「アルドステロンエスケープ」または「アルドステロンブレイクスルー」は、一部の治療中対象において、アルドステロン放出を確実に抑制するための現在利用可能なACE阻害薬 アンジオテンシン受容体拮抗薬（ARB）及び／または直接的レニン阻害薬（DRI）の治療が効かなくなることを指す。このアルドステロンの不完全な遮断は、ACE阻害薬、DRI及びARBによる一部の高血圧の対象の効果的な治療を妨げている。

【0032】

「剤」とは、動物に投与したときに治療上の利益をもたらすことができる活性物質を意味する。「第1の剤」とは、本明細書で提供される治療用化合物を意味する。例えば、第1の剤は、AGTを標的にするアンチセンスオリゴヌクレオチドである。「第2の剤」とは、第2の本明細書に記載される治療用化合物を意味する。例えば、第2の剤は、AGTまたはAGT以外の標的を標的にする第2のアンチセンスオリゴヌクレオチドであり得る。あるいは、第2の剤は、アンチセンスオリゴヌクレオチド以外の化合物であり得る。

10

【0033】

「改善」または「改善する」は、関連する疾患、障害及び／または病態の少なくとも1つの指標、マーカー、徴候または症状の軽減を指す。特定の実施形態において、改善は、病態、障害及び／または疾患の1つ以上の指標の進行の遅延または減速を含む。指標の重症度は、当業者に知られている、主観的または客観的尺度によって決定することができる。

【0034】

「アンジオテンシノーゲン」及び「AGT」は、本明細書で区別なく用いられる。アンジオテンシノーゲンは、SERPINA8及びANHUとしても知られている。

20

【0035】

「アンジオテンシノーゲン核酸」または「AGT核酸」とは、AGTをコードする任意の核酸を意味する。例えば、特定の実施形態において、AGT核酸には、AGTをコードするDNA配列、AGTをコードするDNAから転写されたRNA配列（イントロン及びエクソンを含むゲノムDNAを含む）、及びAGTをコードするmRNA配列が含まれる。「AGT mRNA」は、AGTタンパク質をコードするmRNAを意味する。

【0036】

「AGT特異的阻害薬」は、AGT mRNA及び／またはAGTタンパク質の発現を特異的に阻害することができる任意の剤を指す。例えば、AGT特異的阻害薬には、AGT mRNA及び／またはAGTタンパク質の発現を特異的に阻害することができる、核酸（RNAseH、siRNA及びブロックマーアンチセンス化合物などのアンチセンス化合物を含む）、ペプチド、抗体、小分子及び他の剤が含まれる。特定の実施形態において、AGT特異的阻害薬は、AGT mRNAレベル及び／またはAGTタンパク質発現を特異的に調節することによって、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系（RAAS）経路の構成要素に影響を与えることができる。特定の実施形態において、AGT特異的阻害薬は、AGT mRNAレベル及び／またはAGTタンパク質発現を特異的に調節することによって、血圧などのRAAS経路関連疾患、障害及び／または病態に影響を与えることができる。同様に、特定の実施形態において、AGT特異的阻害薬は、動物における他の分子プロセスに影響を与えることができる。

30

40

【0037】

「動物」は、ヒトまたはヒト以外の動物を指し、限定するものではないが、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ及び非ヒト霊長類（サル及びチンパンジーを含むが、これらに限定されない）が含まれる。

【0038】

「抗高血圧薬」は、血圧を下げることを目的とする薬物を指す。かかる薬物の例には、RAAS阻害薬、利尿薬、カルシウムチャネル拮抗薬、交感神経受容体遮断薬、交感神経作動薬及び血管拡張薬が挙げられるが、これらに限定されない。一例として、抗高血圧薬カaptoprilを本明細書に記載のAGT化合物と組み合わせて使用して、RAAS経路関連疾

50

患、障害及び／もしくは病態を有する動物、またはそのリスクのある動物を治療することができる。

【0039】

「抗高血圧処置」は、高血圧を軽減するために対象に対して実施される医療処置を指す。かかる処置の例には、腎デナベーション及び圧受容器活性化療法が挙げられる。

【0040】

「抗体」は、何らかの方法で抗原と特異的に反応することを特徴とする分子を指し、抗体及び抗原は、他方の観点から互いに定義される。抗体は、完全な抗体分子、または重鎖、軽鎖、F a b領域及びF c領域などの任意のその断片もしくは領域を指す。

【0041】

「アンチセンス活性」とは、アンチセンス化合物のその標的核酸へのハイブリダイゼーションに帰する何らかの検出可能または測定可能な活性を意味する。特定の実施形態において、アンチセンス活性は、標的核酸または当該標的核酸によってコードされているタンパク質の量または発現の減少である。

【0042】

「アンチセンス化合物」とは、水素結合を介して標的核酸にハイブリダイゼーションを起こすことができるオリゴマー化合物を意味する。

【0043】

「アンチセンス阻害」とは、アンチセンス化合物の非存在下での標的核酸レベルまたは標的タンパク質レベルと比較した、標的核酸に相補的なアンチセンス化合物の存在下での標的核酸レベルまたは標的タンパク質レベルの減少を意味する。

【0044】

「アンチセンスオリゴヌクレオチド」とは、標的核酸の対応する領域またはセグメントへのハイブリダイゼーションを可能にする核酸塩基配列を有する一本鎖オリゴヌクレオチドを意味する。

【0045】

「二環式糖」とは、2つの非ジェミナル環原子の架橋によって修飾されたフロシル環を意味する。二環式糖は、修飾糖である。

【0046】

「二環式核酸」または「BNA」は、ヌクレオシドまたはヌクレオチドのフラノース部分が、フラノース環上の2つの炭素原子を接続している架橋を含み、これにより二環式系を形成している、ヌクレオシドまたはヌクレオチドを指す。

【0047】

「血圧」は、循環系中の血液の血管壁に対する圧力を指す。血圧は、主に動物の心臓の鼓動によるものである。各心拍中に、血圧は、最高（収縮期）血圧（SBP）と最低（拡張期）血圧（DBP）との間で変動する。平均動脈圧（MAP）は、心拍周期中の動脈圧の平均である。血圧は、血圧測定器（すなわち、血圧計）によって測定することができる。安静時の正常血圧は、収縮期100～140 mmHg及び拡張期60～90 mmHgの範囲内であり、一般に、収縮期圧（最高読み取り値）／拡張期圧（最低読み取り値）mmHgとして表される。

【0048】

「キャップ構造」または「末端キャップ部分」とは、アンチセンス化合物のいずれかの末端に組み込まれた化学修飾を意味する。

【0049】

「cet」または「拘束エチル」とは、4'-炭素と2'-炭素とを接続する架橋を含み、当該架橋が式：4'-CH(CH₃)-O-2'を有する、二環式糖部分を意味する。

【0050】

「拘束エチルヌクレオシド」（cetヌクレオシドも同様）とは、4'-CH(CH₃)-O-2'架橋を含む二環式糖部分を含むヌクレオシドを意味する。

10

20

30

40

50

【0051】

「化学的に異なる領域」は、同じアンチセンス化合物の別の領域とは何らかの形で化学的に異なるアンチセンス化合物の領域を指す。例えば、2'-O-メトキシエチルヌクレオチドを有する領域は、2'-O-メトキシエチル修飾を含まないヌクレオチドを有する領域とは化学的に異なる。

【0052】

「キメラアンチセンス化合物」とは、少なくとも2つの化学的に異なる領域を有するアンチセンス化合物を意味する。

【0053】

「共投与」とは、個体への2つ以上の薬剤の投与を意味する。2つ以上の薬剤は、単一の医薬組成物であってもよいし、別個の医薬組成物であってもよい。2つ以上の薬剤のそれぞれは、同じ投与経路または異なる投与経路で投与することができる。共投与は、同時投与、並行投与または順次投与を包含する。

10

【0054】

「相補性」とは、第1の核酸と第2の核酸の核酸塩基間の対合能力を意味する。特定の実施形態において、第1の核酸はアンチセンス化合物であり、第2の核酸は標的核酸である。

【0055】

「連続した核酸塩基」とは、互いに直接隣接する核酸塩基を意味する。

【0056】

「デオキシリボヌクレオチド」とは、ヌクレオチドの糖部分の2'位に水素を有するヌクレオチドを意味する。デオキシリボヌクレオチドは、種々の置換基のいずれかで修飾されてもよい。

20

【0057】

「希釈剤」とは、薬理活性はないが、薬学的に必要であるか、望ましい、組成物中の成分を意味する。例えば、注射組成物中の希釈剤は、液体、例えば、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)または水であり得る。

【0058】

「製剤単位」とは、薬剤が提供される形態、例えば、丸剤、錠剤または当該技術分野において知られている他の製剤単位を意味する。特定の実施形態において、製剤単位は、凍結乾燥されたアンチセンスオリゴヌクレオチドを含有するバイアルである。特定の実施形態において、製剤単位は、再構成されたアンチセンスオリゴヌクレオチドを含有するバイアルである。

30

【0059】

「用量」とは、1回の投与または指定された期間内に提供される薬剤の指定量を意味する。特定の実施形態において、ある用量は、1回、2回またはそれ以上のボーラス、錠剤または注射で投与することができる。例えば、皮下投与が望ましい特定の実施形態において、所望の用量は、1回の注射では容易に対応できない体積を必要とし、そのため、2回以上の注射を使用して所望の用量を達成することができる。特定の実施形態において、薬剤は、長期間にわたる注入または持続注入により投与される。用量は、時間、日、週または月あたりの薬剤の量として示すことができる。

40

【0060】

「有効な量」または「治療上有効な量」とは、活性薬剤を必要とする個体において所望の生理学的結果をもたらすのに十分な活性薬剤の量を意味する。有効な量は、治療される個体の健康状態及び身体状態、治療される個体の分類群、組成物の処方、個体の医学的状态の評価、ならびに他の関連因子に応じて、個体間で変動し得る。一例として、有効量のAGTアンチセンスオリゴヌクレオチドは、血圧を低下させ、かつ／または高血圧による器官障害を改善する。

【0061】

「完全に相補的」または「100%相補的」とは、第1の核酸の核酸塩基配列の各核酸

50

塩基が、第2の核酸の第2の核酸塩基配列中に相補的な核酸塩基を有することを意味する。特定の実施形態において、第1の核酸はアンチセンス化合物であり、第2の核酸は標的核酸である。

【0062】

「ギャップマー」とは、RNase H切断を支援する複数のヌクレオシドを有する内側領域が、1つ以上のヌクレオシドを有する外側領域との間に配置されており、ここで、内側領域に含まれるヌクレオシドは、外側領域に含まれる1つ以上のヌクレオシドとは化学的に異なる、キメラアンチセンス化合物を意味する。内側領域は、「ギャップセグメント」と呼ぶことができ、外側領域は、「ウイングセグメント」と呼ぶことができる。

【0063】

「ギャップ拡大」とは、1～6個のヌクレオシドを有する5'及び3'ウイングセグメントの間に配置され、これらのウイングセグメントに直接隣接した12個以上の連続した2'-デオキシヌクレオシドのギャップセグメントを有するキメラアンチセンス化合物を意味する。

【0064】

「ハイブリダイゼーション」とは、相補的な核酸分子のアニールングを意味する。特定の実施形態において、相補的な核酸分子には、アンチセンス化合物と核酸標的が挙げられる。

【0065】

「高血圧」または「HTN」は、動物の血圧が上昇している、慢性的な医学的状态を指す。血圧が上昇すると、心臓の働きを増大させて血液を血管に循環させる必要がある。血圧が持続的に140/90 mmHg以上である場合、高血圧と言われる。高血圧は、一次性（本態性）または二次性に分類される。一次性高血圧は、明確な原因がなく、遺伝、食生活、運動不足及び肥満に関連すると考えられている。二次性高血圧は、別の医学的状态によって生じたものである。高血圧は、寿命短縮、慢性腎疾患、脳卒中、心筋梗塞、心不全、血管の動脈瘤（例えば、大動脈瘤）、末梢動脈疾患、器官障害（例えば、心拡大または心肥大）ならびに他の心臓血管系疾患、障害及び／もしくは病態またはその症状の主要危険因子である。抗高血圧薬、食生活の改善及び生活習慣の改善は、高血圧を軽減し、高血圧に関連する疾患、障害及び／または病態を軽減し得る。高血圧は、薬物介入に抵抗がない（すなわち、市販の薬物での治療法によって制御可能である）場合もあれば、薬物介入に抵抗がある場合もある。

【0066】

「RAAS関連疾患、障害及び／もしくは病態を有する動物、またはそのリスクのある動物を特定する」とは、RAAS関連疾患、障害及び／もしくは病態の診断を受けた動物を特定すること、またはRAAS関連疾患、障害及び／もしくは病態を発症する素因のある動物を特定することを意味する。RAAS関連疾患、障害及び／または病態を発症する素因のある個体には、例えば、高血圧などのRAAS関連疾患の家族歴を有する個体が含まれる。このような特定は、個体の病歴の評価及び標準的な臨床検査または臨床評価を含む任意の方法によって達成することができる。

【0067】

「直接隣接する」とは、直接隣接する要素と要素との間に介在する要素が存在しないことを意味する。

【0068】

「個体」または「対象」または「動物」とは、処置または治療のために選択されるヒトまたはヒト以外の動物を意味する。

【0069】

「発現または活性を阻害する」は、RNAまたはタンパク質の発現または活性の低下または遮断を指し、必ずしも発現または活性の完全な排除を示すものではない。

【0070】

「ヌクレオシド間結合」は、ヌクレオシド間の化学結合を指す。

10

20

30

40

50

【0071】

「静脈内投与」とは、静脈内への投与を意味する。

【0072】

「結合されたヌクレオシド」とは、互いに結合された隣接するヌクレオシドを意味する。

【0073】

「マーカー」または「バイオマーカー」は、任意の測定可能かつ定量可能な生物学的パラメーターであり、健康または生理機能に関する評価の指標となる。例えば、血圧の上昇または器官障害（例えば、線維症）の軽減は、RAAS関連疾患、障害及び／または病態のマーカーとみなすことができる。

10

【0074】

「ミスマッチ」または「非相補的核酸塩基」または「MM」は、第1の核酸の核酸塩基が、第2の核酸または標的核酸の対応する核酸塩基と対合することができない場合を指す。

【0075】

「修飾ヌクレオシド間結合」は、天然に生じるヌクレオシド間結合（すなわち、ホスホジエステルヌクレオシド間結合）からの置換または任意の変更を指す。

【0076】

「修飾核酸塩基」とは、アデニン、シトシン、グアニン、チミジンまたはウラシル以外の任意の核酸塩基を指す。例えば、修飾核酸塩基は、5'-メチルシトシンであり得る。「非修飾核酸塩基」とは、プリン塩基のアデニン（A）及びグアニン（G）と、ピリミジン塩基のチミン（T）、シトシン（C）及びウラシル（U）とを意味する。

20

【0077】

「修飾ヌクレオシド」とは、修飾糖部分及び／または修飾核酸塩基を独立して有するヌクレオシドを意味する。

【0078】

「修飾ヌクレオチド」とは、修飾糖部分、修飾ヌクレオシド間結合及び／または修飾核酸塩基を独立して有するヌクレオチドを意味する。

【0079】

「修飾オリゴヌクレオチド」とは、修飾ヌクレオシド間結合、修飾糖及び／または修飾核酸塩基を含むオリゴヌクレオチドを意味する。

30

【0080】

「修飾糖」は、天然糖からの置換または変更を指す。例えば、修飾糖は、2'-MOEであり得る。

【0081】

「調節する」とは、細胞、組織、器官または生物のある特徴を変化または調整することを指す。例えば、AGT mRNAを調節するとは、細胞、組織、器官または生物のAGT mRNA及び／またはAGTタンパク質のレベルを増加または減少させることを意味し得る。AGT mRNA及び／またはタンパク質の調節は、細胞、組織、器官または生物におけるRAAS関連疾患、障害及び／または病態の増大または減少をもたらし得る。

40

「調節薬」は、細胞、組織、器官または生物において変化をもたらす。例えば、AGTアンチセンス化合物は、細胞、組織、器官または生物のAGT mRNA及び／またはAGTタンパク質の量を増加または減少させる調節薬であり得る。

【0082】

「モノマー」は、オリゴマーの1つの単位を指す。モノマーには、天然に生じるものまたは修飾されたものを問わず、ヌクレオシド及びヌクレオチドが挙げられるが、これらに限定されない。

【0083】

「モチーフ」とは、アンチセンス化合物の化学的に異なる領域のパターンを意味する。

【0084】

50

「天然に生じるヌクレオシド間結合」とは、3'－5'ホスホジエステル結合を意味する。

【0085】

「天然糖部分」とは、DNA（2'－H）またはRNA（2'－OH）に認められる糖を意味する。

【0086】

「非治療抵抗性高血圧」、「非難治性高血圧」または「制御された高血圧」は、最大3種の抗高血圧剤の同時使用による治療に応答し、結果として、例えば、血圧がSBP<140mmHgまたはDBP<90mmHgとなる高血圧と定義される。

【0087】

「核酸」は、ヌクレオチドモノマーからなる分子を指す。核酸には、リボ核酸（RNA）、デオキシリボ核酸（DNA）、一本鎖核酸、二本鎖核酸、低分子干渉リボ核酸（siRNA）及びmicroRNA（miRNA）が含まれる。

【0088】

「核酸塩基」とは、別の核酸の塩基と対合することができる複素環式部分を意味する。

【0089】

「核酸塩基配列」とは、任意の糖、結合または核酸塩基の修飾に関係なく、連続した核酸塩基の順序を意味する。

【0090】

「ヌクレオシド」とは、糖に結合した核酸塩基を意味する。

【0091】

「ヌクレオシド模倣物」には、オリゴマー化合物の1つ以上の位置で、糖または糖及び塩基、また必須ではないが結合を置換するために使用される構造が含まれ、例えば、モルホリノ、シクロヘキセニル、シクロヘキシル、テトラヒドロピラニル、ビスシクロまたはトリシクロ糖模倣物、例えば、フラノース以外の糖単位を有するヌクレオシド模倣物である。

【0092】

「ヌクレオチド」とは、ヌクレオシドの糖部分にリン酸基が共有結合したヌクレオシドを意味する。

【0093】

「ヌクレオチド模倣物」には、オリゴマー化合物の1つ以上の位置で、ヌクレオシド及び結合を置換するために使用される構造が含まれ、例えば、ペプチド核酸またはモルホリノ（－N（H）－C（＝O）－O－または他の非ホスホジエステル結合によって結合されたモルホリノ）などである。

【0094】

「器官障害」または「終末器官障害」は、循環系によって栄養補給される主要器官に生じる障害を指し、例えば、心臓（例えば、心筋肥大、心機能低下及び／または心不全）、腎臓（例えば、アルブミン尿、タンパク質尿、腎機能低下及び／または腎不全）、眼（例えば、高血圧性網膜症）、脳（例えば、脳卒中）などである。器官は、動物の高血圧によって障害を生じ得る。特定の実施形態において、心臓障害は、線維症、心拡大につながる心臓細胞及び／または心筋の肥大である。

【0095】

「オリゴマー化合物」または「オリゴマー」は、2つ以上の下位構造（モノマー）を含み、核酸分子のある領域にハイブリダイズすることができる高分子構造を指す。特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、オリゴヌクレオシドである。特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、オリゴヌクレオチドである。特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、アンチセンス化合物である。特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、キメラオリゴヌクレオチドである。

【0096】

10

20

30

40

50

「オリゴヌクレオチド」とは、結合されたヌクレオシドの重合体を指し、ヌクレオシドのそれぞれは、互いに独立して修飾されていても修飾されていなくてもよい。

【0097】

「非経口投与」とは、注射または注入による投与を意味する。非経口投与には、皮下投与、静脈内投与、筋肉内投与、動脈内投与、腹腔内投与または頭蓋内投与、例えば、髄腔内もしくは脳室内投与が含まれる。投与は、連続的、または長期的、または短期的、または断続的であり得る。

【0098】

「ペプチド」は、少なくとも2つのアミノ酸をアミド結合によって結合することによって形成された分子を指す。ペプチドは、ポリペプチド及びタンパク質を指す。

10

【0099】

「医薬組成物」とは、個体への投与に好適な物質の混合物を意味する。例えば、医薬組成物は、1つ以上の活性薬剤及び無菌水溶液を含み得る。

【0100】

「薬学的に許容される担体」とは、オリゴヌクレオチドの構造に干渉しない媒体または希釈剤を意味する。このような特定の担体は、対象による経口摂取用の医薬組成物、例えば、錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル剤、液剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー剤、懸濁剤及びロゼンジ剤の製剤化を可能にする。例えば、薬学的に許容される担体は、滅菌水またはPBSなどの無菌水溶液であり得る。

【0101】

20

「薬学的に許容される誘導体」は、本明細書に記載される化合物の薬学的に許容される塩、コンジュゲート、プロドラッグまたは異性体を包含する。

【0102】

「薬学的に許容される塩」とは、アンチセンス化合物の生理学的及び薬学的に許容される塩、すなわち、親オリゴヌクレオチドの所望の生物学的活性を保持し、かつ望ましくない毒性作用を付与しない塩を意味する。

【0103】

「ホスホロチオエート結合」とは、架橋していない酸素原子のうちの1つを硫黄原子で置き換えることによって、ホスホジエステル結合が修飾されている、ヌクレオシド間の結合を意味する。ホスホロチオエート結合は、修飾ヌクレオシド間結合である。

30

【0104】

「部分 (portion)」とは、核酸のある所定数の連続した (すなわち、結合された) 核酸塩基を意味する。特定の実施形態において、部分は、標的核酸のある所定数の連続した核酸塩基である。特定の実施形態において、部分は、アンチセンス化合物のある所定数の連続した核酸塩基である。

【0105】

「予防する」とは、疾患、障害または病態の発症、発現または進行を、数分から無期限までの期間、遅延させ、または未然に防ぐことを指す。また、予防するとは、疾患、障害または病態を発症するリスクを低減することも意味する。

【0106】

40

「プロドラッグ」とは、不活性形態で調製され、内因性酵素または他の化学物質もしくは条件の作用によって、体内またはその細胞内で活性形態に変換される、治療薬を意味する。

【0107】

「レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系」、「レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系経路」、「RAAS経路」または「RAAS」は、前駆体要素 (アンジオテンシノーゲン) が、レニン及び酵素アンジオテンシン変換酵素 (ACE) などの様々な酵素によってアンジオテンシン I 及びアンジオテンシン II などの下流要素に変換される多要素酵素経路を指す。アンジオテンシン I は、経路中、ステロイドのアルドステロンの分泌を刺激する。RAAS経路は、体内の血圧と体液バランスを制御する。

50

【0108】

「レニン-アンジオテンシン系」または「RAS」または「RAS経路」は、RAAS経路の一部を指す。この経路の様々な構成要素は、各構成要素の産生を妨げる作動薬または遮断薬の標的になっている。例えば、レニン阻害薬、ACE阻害薬、アンジオテンシン受容体拮抗薬（ARB）などは、RAS経路を阻害または遮断するために開発されている。しかしながら、様々なRAS経路要素を標的にする市販の治療薬は、多様な機序に起因して、RAS経路を完全に阻害または遮断するには効果的ではない（Nobakht et al., Nat Rev Nephrol, 2011, 7: 356-359）。

【0109】

「RAAS関連疾患、障害及び／または病態」または「RAAS経路関連疾患、障害及び／または病態」は、動物におけるRAASに関連する任意の疾患、障害または病態を指す。RAAS関連疾患、障害及び／または病態の例には、寿命短縮、高血圧（例えば、非治療抵抗性高血圧、治療抵抗性高血圧）、腎疾患（例えば、慢性腎疾患、多発性嚢胞腎疾患）、脳卒中、心疾患（例えば、心筋梗塞、心不全、心臓弁膜症）、血管の動脈瘤（例えば、大動脈瘤）、末梢動脈疾患、器官障害（例えば、心臓障害または心肥大）、組織線維症ならびに他の心臓血管系疾患、障害及び／もしくは病態またはその症状が挙げられる。特定の実施形態において、RAAS関連疾患、障害及び／または病態は、高血圧を伴わない。

【0110】

「治療抵抗性高血圧」または「RHTN」は、（1）薬物クラスが異なる3種の抗高血圧剤の同時使用にかかわらず、SBP $\geq$ 140 mmHgもしくはDBP $\geq$ 90 mmHgの血圧、または（2）血圧にかかわらず4種以上の抗高血圧薬の使用として定義される。

【0111】

「副作用」とは、治療に起因すると考えられる、所望の効果ではない生理学的疾患及び／または病態を意味する。特定の実施形態において、副作用には、注射部位反応、肝機能検査異常、腎機能異常、肝毒性、腎毒性、中枢神経系異常、ミオパチー及び不調が含まれる。例えば、血清中アミノトランスフェラーゼレベルの増加は、肝毒性または肝機能異常を示し得る。例えば、ビリルビンの増加は、肝毒性または肝機能異常を示し得る。

【0112】

「一本鎖オリゴヌクレオチド」とは、相補鎖にハイブリダイズしないオリゴヌクレオチドを意味する。

【0113】

「特異的にハイブリダイズ可能」とは、特異的結合が望まれる条件下、例えば、in vivo アッセイ及び治療的処置の場合における生理学的条件下で、アンチセンスオリゴヌクレオチドと標的核酸との間に十分な程度の相補性を有し、所望の作用を誘導するが、非標的核酸に対する作用は最小であるか、全くないアンチセンス化合物を指す。例として、アンチセンス化合物は、化合物の標的核酸への結合が標的核酸の通常機能に干渉して活性の消失を生じさせ、かつ特異的結合が望まれる条件下でアンチセンス化合物の非標的核酸配列に対する非特異的結合を回避するのに十分な程度の相補性がある場合、標的に特異的にハイブリダイズ可能である。

【0114】

「皮下投与」とは、皮膚の直ぐ下への投与を意味する。

【0115】

「標的にする」または「標的化された」とは、標的核酸に特異的にハイブリダイズし、所望の作用を誘導するアンチセンス化合物の設計及び選定のプロセスを意味する。

【0116】

「標的核酸」、「標的RNA」及び「標的RNA転写物」は全てアンチセンス化合物によって標的化が可能な核酸を指す。

【0117】

「標的セグメント」とは、標的核酸のうち、アンチセンス化合物が標的とするヌクレオ

10

20

30

40

50

チドの配列を意味する。「5' 標的部位」とは、標的セグメントの最も 5' 側のヌクレオチドを指す。「3' 標的部位」とは、標的セグメントの最も 3' 側のヌクレオチドを指す。

【0118】

「治療上有効な量」とは、動物に治療上の利益をもたらす薬剤の量を意味する。

【0119】

「治療する」とは、動物の疾患、障害または病態の変化または改善を達成するために、当該動物に医薬組成物を投与することを指す。特定の実施形態において、1つ以上の医薬組成物を動物に投与することができる。

【0120】

「非修飾ヌクレオチド」とは、天然に生じる核酸塩基、糖部分及びヌクレオシド間結合で構成されたヌクレオチドを意味する。特定の実施形態において、非修飾ヌクレオチドは、RNAヌクレオチド（すなわち、 β -D-リボヌクレオチド）またはDNAヌクレオチド（すなわち、 β -D-デオキシリボヌクレオチド）である。

【0121】

特定の実施形態

特定の実施形態は、AGTを特異的に調節する化合物を提供する。特定の実施形態において、AGT特異的調節薬は、RAAS関連疾患、障害及び／または病態を治療、予防または改善するために使用されるAGT特異的阻害薬である。特定の実施形態において、AGT特異的阻害薬は、AGT mRNA及び／またはAGTタンパク質の発現を阻害することができる核酸化合物である。特定の実施形態において、核酸化合物は、オリゴマー化合物である。特定の実施形態において、オリゴマー化合物は、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドである。特定の実施形態において、修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドは、キメラアンチセンスオリゴヌクレオチドである。

【0122】

特定の実施形態において、化合物は、AGT核酸を標的にする。特定の実施形態において、AGT核酸は、GENBANKアクセッション番号NM_000029.3（配列番号1として本明細書に援用される）、GENBANKアクセッション番号NT_167186.1のヌクレオチド24354000~24370100の相補体（配列番号2として本明細書に援用される）、GENBANKアクセッション番号AK307978.1（配列番号3として本明細書に援用される）、GENBANKアクセッション番号AK303755.1（配列番号4として本明細書に援用される）、GENBANKアクセッション番号AK293507.1（配列番号5として本明細書に援用される）、及びGENBANKアクセッション番号CR606672.1（配列番号6として本明細書に援用される）に示されるヒト配列のうちのいずれかである。

【0123】

本明細書で開示される特定の実施形態は、AGTをコードする核酸配列を標的にする修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物を提供する。特定の実施形態において、化合物は、配列番号1~6のうちのいずれかの核酸塩基配列に示されるAGT配列を標的にする。

【0124】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号1~6のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19または20個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する12~30個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物を提供する。

【0125】

特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列は、配列番号1~6のうちの長さの等しい部分に対して、少なくとも70%、少なくとも75%、

10

20

30

40

50

少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % または少なくとも 99 % 相補的である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、配列番号 1～6 のいずれかのうちの長さの等しい部分に 100 % 相補的な核酸塩基配列を含む。

【0126】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 1 の核酸塩基 2027～2068 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 12～30 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 80 % 相補的である、化合物を提供する。

10

【0127】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 1 の核酸塩基 2027～2068 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19 または少なくとも 20 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 12～30 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 80 % 相補的である、化合物を提供する。

【0128】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 1 の核酸塩基 2250～2337 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 12～30 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 80 % 相補的である、化合物を提供する。

20

【0129】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 1 の核酸塩基 2250～2337 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19 または少なくとも 20 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 12～30 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 80 % 相補的である、化合物を提供する。

30

【0130】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 1 の核酸塩基 2266～2337 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 12～30 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 80 % 相補的である、化合物を提供する。

【0131】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 1 の核酸塩基 2266～2337 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19 または少なくとも 20 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 12～30 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 80 % 相補的である、化合物を提供する。

40

【0132】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 1 の核酸塩基 2281～2300 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 12～30 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチド

50

を含み、当該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 80 % 相補的である、化合物を提供する。

【0133】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 1 の核酸塩基 2281～2300 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19 または少なくとも 20 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 12～30 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 80 % 相補的である、化合物を提供する。

10

【0134】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 1 の核酸塩基 2324～2346 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 12～30 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 80 % 相補的である、化合物を提供する。

【0135】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 1 の核酸塩基 2324～2346 のうちの長さの等しい部分に相補的な少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19 または少なくとも 20 個の連続した核酸塩基部分を含む核酸塩基配列を有する 12～30 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドの核酸塩基配列が配列番号 1 に対して少なくとも 80 % 相補的である、化合物を提供する。

20

【0136】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 14～2051 の核酸塩基配列のいずれかのうちの少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19 または 20 個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する 12～30 個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物を提供する。

30

【0137】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号 40、42、46、47、49、53～55、61、62、68、71、76、82、84、85、89、93、96～98、102、109、114、119、127、129、130～135、137～140、142、143、160、162～207、209、210、223、225～227、230～243、252～254、257、258、262～273、276、278、279、281、284、452、463、464、466、467、470、477、480、500、502、512、517、525、526、726、728、868、905、906、954、961、962、963、965、966、971、973、986、987、989、990、991、994、997、998、1000、1001、1011、1015、1021、1024、1035、1080、1085、1150、1258、1259～1262、1293、1294、1299、1325、1326、1354、1355～1357、1370、1384、1391、1393～1395、1406～1408、1431、1467、1468、1470、1472～1474、1476、1488、1489、1500、1503、1504、1522、1524、1526、1528、1535、1536、1539、1542、1543、1545、1585、1592、1594、1595、1599、1604、1610～1612、1615、1618、1619～1624、1626、1628、1629、1631、1632、1635～1637、1640、1658、1662、1665～16

40

50

71、1673、1676～1679、1681～1683、1686、1687、1699～1710、1712、1714～1721、1724～1726、1728～1731、1735、1736、1739～1741、1751、1755、1771、1778、1781～1783、1827、1834、1836、1843～1846、1872、1874、1875～1888、1890～1895、1897、1898、1900、1904～1927、1931～1933、1937、1939、1940、1943、1950、1951、1953、1955～1959、1962、1964～1967、1969～1971、1973、1977～1981、1984～1991、1993～1996、2000～2005、2007～2012、2014～2025、2027、2028、2030、2032～2037、2039～2045、2047、2051の核酸塩基配列のいずれかのうちの少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19または20個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する12～30個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物を提供する。

【0138】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号46、53、54、68、76、85、96、97、114、127、129～132、134、135、137～139、142、162～207、225、226、230～243、252、264、266～270、284、464、467、962、963、965、966、973、990、991、997、1000、1001、1011、1261、1299、1355、1356、1470、1472、1473、1503、1504、1522、1526、1535、1536、1542、1543、1545、1595、1599、1604、1620、1623、1624、1626、1640、1662、1666、1667、1669、1670、1673、1682、1683、1687、1699～1706、1708、1712、1714～1716、1719～1721、1724～1726、1729、1730、1736、1778、1783、1836、1843、1875～1888、1893～1895、1897、1900、1904～1908、1911、1914～1918、1920、1922、1923、1925、1926、1931～1933、1937、1939、1955、1958、1959、1962、1966、1967、1970、1971、1973、1977、1978～1981、1985、1986、1987、1988、1990、1991、1994、1996、2000、2002～2005、2010、2011、2014～2025、2027、2028、2035～2037、2039、2041～2045の核酸塩基配列のいずれかのうちの少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19または20個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する12～30個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物を提供する。

【0139】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号96、127、129～132、139、162～169、171～189、191～193、195、196、198～206、234、236、238～240、267～270、966、1000、1522、1542、1623、1624、1667、1682、1683、1700、1703、1704、1708、1714、1719、1720、1724～1726、1729、1875、1876、1878、1884～1886、1893、1894、1906、1908、1914、1917、1918、1922、1923、1925、1926、1932、1933、1967、1970、1978～1981、1985、1986、1988、1990、1991、2003、2010、2015、2016、2018、2020、2021、2024、2025、2027、2028、2035、2037

、2039、2044の核酸塩基配列のいずれかのうちの少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19または20個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する12～30個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物を提供する。

【0140】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号129、130、132、163～168、171、172、175～186、188、189、192、193、195、198～206、238、239、966、1703、1720、1726、1923、1925、2003、2015の核酸塩基配列のいずれかのうちの少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19または20個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する12～30個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物を提供する。

10

【0141】

本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号46、53～54、61、68、76、83、85、93、96～97、109、127、129～130、132、134～15、137～39、142、163～172、180～184、186、189、234、236、238～239、267、313、411、452、463～470、475～478、480、500～503、512、517～518、524～526、54、689、702、725～726、728、738、779、786～787、800、808、810～811、825、865、868、889、894、903、905、909、954、966、1011、1015、1021、1024、1080、1085、1258～1259、1261～1262、1293～1294、1299、1325、1470、1472～1473、1522、1542、1604、1623～1624、1667、1670、1682～1683、1687、1700、1703～1704、1708、1714、1716、1719～1720、1724～1726、1729～1730、1827、1936、1843～1844、1846、1886、1893～1894、1914、1923、1925、1932、1979、1986、1988、1990、2003、2015、2018、2020、2027～2028、2035、2037、2039、2044の核酸塩基配列のいずれかのうちの少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19または20個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する12～30個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物を提供する。本明細書で開示される特定の実施形態は、配列番号238、1714、1719、1893～1894、1914、1923、1925、2003の核酸塩基配列のいずれかのうちの少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19または20個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する12～30個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含む、化合物を提供する。

20

30

40

【0142】

特定の実施形態において、化合物は、8～80、20～80、10～50、20～35、10～30、12～30、15～30、16～30、20～30、20～29、20～28、20～27、20～26、20～25、20～24、20～23、20～22、20～21、15～25、16～25、15～24、16～24、17～24、18～24、19～24、19～22、16～21、18～21または16～20個の結合された核酸塩基からなる修飾オリゴヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、化合物は、16個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含む。特定の実施形態

50

において、化合物は、20個の結合されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含む。

【0143】

特定の実施形態において、化合物は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79もしくは80個の長さ、または前述の値のうちのいずれか2つによって定義される範囲の結合された核酸塩基からなる修飾オリゴヌクレオチドを含む。

10

【0144】

特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、一本鎖である。

【0145】

特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの修飾ヌクレオシド間結合を含む。特定の実施形態において、修飾ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。特定の実施形態において、少なくとも1つの修飾ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。特定の実施形態において、各修飾ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

20

【0146】

特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、修飾糖を含むヌクレオシドを少なくとも1つ含む。特定の実施形態において、少なくとも1つの修飾糖は、二環式糖を含む。特定の実施形態において、少なくとも1つの修飾糖は、2'-O-メトキシエチル、拘束エチル、3'-フルオロ-HNAまたは4'-(CH₂)_n-O-2'架橋(式中、nは1または2である)を含む。

【0147】

特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、修飾核酸塩基を含むヌクレオシドを少なくとも1つ含む。特定の実施形態において、修飾核酸塩基は、5-メチルシトシンである。

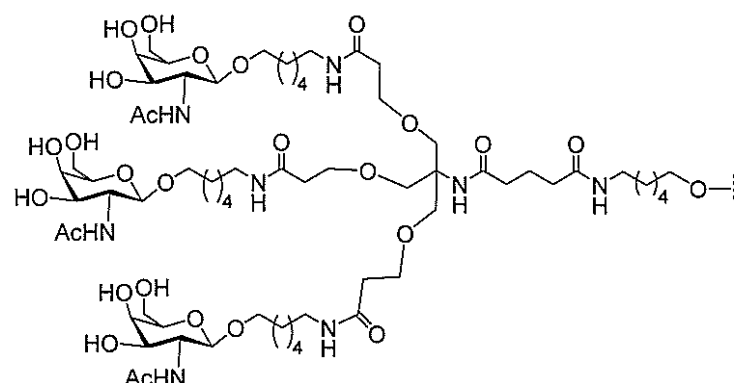
【0148】

特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、コンジュゲート基を含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、炭水化物部分である。特定の実施形態において、コンジュゲートは、GalNAc部分である。特定の実施形態において、GalNAcは、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6GalNAc₃である。特定の実施形態において、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6GalNAc₃コンジュゲートは、次式を有する。

30

【0149】

【化2】



40

【0150】

50

特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ- (THA) -C6-GalNAc₃ コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

【0151】

特定の実施形態において、化合物は、12〜30個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号1の領域2250〜2337のうちの長さの等しい部分に対して標的化されているか、相補的である、修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドは、(a) 複数の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、(b) 複数の結合されたヌクレオシドからなる5' ウイングセグメントと、(c) 複数の結合されたヌクレオシドからなる3' ウイングセグメントとを含み、ここで、ギャップセグメントは、5' ウイングセグメントと3' ウイングセグメントとの間に直接隣接して配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、修飾糖を含む。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を更に含む。特定の実施形態において、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAc コンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノ- (THA) -C6-GalNAc₃ コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ- (THA) -C6-GalNAc₃ コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

10

20

【0152】

特定の実施形態において、化合物は、12〜30個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号1の領域2266〜2337のうちの長さの等しい部分に対して標的化されているか、相補的である、修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドは、(a) 複数の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、(b) 複数の結合されたヌクレオシドからなる5' ウイングセグメントと、(c) 複数の結合されたヌクレオシドからなる3' ウイングセグメントとを含み、ここで、ギャップセグメントは、5' ウイングセグメントと3' ウイングセグメントとの間に直接隣接して配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、修飾糖を含む。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を更に含む。特定の実施形態において、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAc コンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノ- (THA) -C6-GalNAc₃ コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ- (THA) -C6-GalNAc₃ コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

30

【0153】

特定の実施形態において、化合物は、12〜30個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号1の領域2281〜2300のうちの長さの等しい部分に対して標的化されているか、相補的である、修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドは、(a) 複数の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、(b) 複数の結合されたヌクレオシドからなる5' ウイングセグメントと、(c) 複数の結合されたヌクレオシドからなる3' ウイングセグメントとを含み、ここで、ギャップセグメントは、5' ウイングセグメントと3' ウイングセグメントとの間に直接隣接して配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、修飾糖を含む。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を更に含む。特定の実施形態において、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAc コンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシ

40

50

ルアミノー（THA）-C6 GalNAc₃ コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノー（THA）-C6 GalNAc₃ コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

【0154】

特定の実施形態において、化合物は、20個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号1の領域2027~2068のうちの長さの等しい部分に対して標的化されているか、相補的である、修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドは、（a）複数の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、（b）複数の結合されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメントと、（c）複数の結合されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメントとを含み、ここで、ギャップセグメントは、5'ウイングセグメントと3'ウイングセグメントとの間に直接隣接して配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、2'-O-メトキシエチル糖を含み、少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合であり、各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。特定の実施形態において、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAc コンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノー（THA）-C6 GalNAc₃ コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノー（THA）-C6 GalNAc₃ コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

【0155】

特定の実施形態において、化合物は、16~20個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号14~2051のうちの少なくとも8個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドは、（a）複数の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、（b）複数の結合されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメントと、（c）複数の結合されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメントとを含み、ここで、ギャップセグメントは、5'ウイングセグメントと3'ウイングセグメントとの間に直接隣接して配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、修飾糖を含み、少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合であり、各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。特定の実施形態において、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAc コンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノー（THA）-C6 GalNAc₃ コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノー（THA）-C6 GalNAc₃ コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。特定の実施形態において、化合物は、16~20個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号40、42、46、47、49、53~55、61、62、68、71、76、82、84、85、89、93、96~98、102、109、114、119、127、129、130~135、137~140、142、143、160、162~207、209、210、223、225~227、230~243、252~254、257、258、262~273、276、278、279、281、284、452、463、464、466、467、470、477、480、500、502、512、517、525、526、726、728、868、905、906、954、961、962、963、965、966、971、973、986、987、989、990、991、994、997、998、1000、1001、1011、1015、1021、1024、1035、1080、1085、1150、1258、1259~1262、1293、1294、1299、1325、1326、1354、1355~1357、1370、1384、1391、1393~1395、1

406～1408、1431、1467、1468、1470、1472～1474、1476、1488、1489、1500、1503、1504、1522、1524、1526、1528、1535、1536、1539、1542、1543、1545、1585、1592、1594、1595、1599、1604、1610～1612、1615、1618、1619～1624、1626、1628、1629、1631、1632、1635～1637、1640、1658、1662、1665～1671、1673、1676～1679、1681～1683、1686、1687、1699～1710、1712、1714～1721、1724～1726、1728～1731、1735、1736、1739～1741、1751、1755、1771、1778、1781～1783、1827、1834、1836、1843～1846、1872、1874、1875～1888、1890～1895、1897、1898、1900、1904～1927、1931～1933、1937、1939、1940、1943、1950、1951、1953、1955～1959、1962、1964～1967、1969～1971、1973、1977～1981、1984～1991、1993～1996、2000～2005、2007～2012、2014～2025、2027、2028、2030、2032～2037、2039～2045、2047、2051のうちの少なくとも8個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドは、(a)複数の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、(b)複数の結合されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメントと、(c)複数の結合されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメントとを含み、ここで、ギャップセグメントは、5'ウイングセグメントと3'ウイングセグメントとの間に直接隣接して配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、修飾糖を含み、少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合であり、各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。特定の実施形態において、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAcコンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

10

20

30

【0156】

特定の実施形態において、化合物は、16～20個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号46、53、54、68、76、85、96、97、114、127、129～132、134、135、137～139、142、162～207、225、226、230～243、252、264、266～270、284、464、467、962、963、965、966、973、990、991、997、1000、1001、1011、1261、1299、1355、1356、1470、1472、1473、1503、1504、1522、1526、1535、1536、1542、1543、1545、1595、1599、1604、1620、1623、1624、1626、1640、1662、1666、1667、1669、1670、1673、1682、1683、1687、1699～1706、1708、1712、1714～1716、1719～1721、1724～1726、1729、1730、1736、1778、1783、1836、1843、1875～1888、1893～1895、1897、1900、1904～1908、1911、1914～1918、1920、1922、1923、1925、1926、1931～1933、1937、1939、1955、1958、1959、1962、1966、1967、1970、1971、1973、1977、1978～1981、1985、1986、1987、1988、1990、1991、1994、1996、2000、2002～2005、2010、2011、2014～2025、2027、2028、2035～2037、2039、2041～2045のうちの少なくとも8個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修

40

50

飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドは、(a)複数の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、(b)複数の結合されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメントと、(c)複数の結合されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメントとを含み、ここで、ギャップセグメントは、5'ウイングセグメントと3'ウイングセグメントとの間に直接隣接して配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、修飾糖を含み、少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合であり、各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。特定の実施形態において、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAcコンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6 GalNAc₃コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6 GalNAc₃コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

10

【0157】

特定の実施形態において、化合物は、16~20個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号96、127、129~132、139、162~169、171~189、191~193、195、196、198~206、234、236、238~240、267~270、966、1000、1522、1542、1623、1624、1667、1682、1683、1700、1703、1704、1708、1714、1719、1720、1724~1726、1729、1875、1876、1878、1884~1886、1893、1894、1906、1908、1914、1917、1918、1922、1923、1925、1926、1932、1933、1967、1970、1978~1981、1985、1986、1988、1990、1991、2003、2010、2015、2016、2018、2020、2021、2024、2025、2027、2028、2035、2037、2039、2044のうちの少なくとも8個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドは、(a)複数の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、(b)複数の結合されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメントと、(c)複数の結合されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメントとを含み、ここで、ギャップセグメントは、5'ウイングセグメントと3'ウイングセグメントとの間に直接隣接して配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、修飾糖を含み、少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合であり、各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。特定の実施形態において、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAcコンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6 GalNAc₃コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6 GalNAc₃コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

20

30

40

【0158】

特定の実施形態において、化合物は、16~20個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号129、130、132、163~168、171、172、175~186、188、189、192、193、195、198~206、238、239、966、1703、1720、1726、1923、1925、2003、2015のうちの少なくとも8個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドは、(a)複数の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、(b)複数の結合されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメントと、(c)複数の結合されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメントとを含み、ここで、ギャップセグメントは、5'ウイングセグメントと3'ウイン

50

グセグメントとの間に直接隣接して配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、修飾糖を含み、少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合であり、各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。特定の実施形態において、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAcコンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

【0159】

特定の実施形態において、化合物は、16~20個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号46、53~54、61、68、76、83、85、93、96~97、109、127、129~130、132、134~15、137~39、142、163~172、180~184、186、189、234、236、238~239、267、313、411、452、463~470、475~478、480、500~503、512、517~518、524~526、654、689、702、725~726、728、738、779、786~787、800、808、810~811、825、865、868、889、894、903、905、909、954、966、1011、1015、1021、1024、1080、1085、1258~1259、1261~1262、1293~1294、1299、1325、1470、1472~1473、1522、1542、1604、1623~1624、1667、1670、1682~1683、1687、1700、1703~1704、1708、1714、1716、1719~1720、1724~1726、1729~1730、1827、1936、1843~1844、1846、1886、1893~1894、1914、1923、1925、1932、1979、1986、1988、1990、2003、2015、2018、2020、2027~2028、2035、2037、2039、2044のうちの少なくとも8個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドは、(a)複数の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、(b)複数の結合されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメントと、(c)複数の結合されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメントとを含み、ここで、ギャップセグメントは、5'ウイングセグメントと3'ウイングセグメントとの間に直接隣接して配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、修飾糖を含み、少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合であり、各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。特定の実施形態において、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAcコンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

【0160】

特定の実施形態において、化合物は、16~20個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号238、1714、1719、1893~1894、1914、1923、1925、2003のうちの少なくとも8個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドは、(a)複数の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、(b)複数の結合されたヌクレオシドからなる5'ウイングセグメントと、(c)複数の結合されたヌクレオシドからなる3'ウイングセグメントとを含み、ここで、ギャップセグメントは、5'ウイングセグメントと3'ウイングセグメントとの間に直接隣接して配置され、各ウイングセ

10

20

30

40

50

グメントの各ヌクレオシドは、修飾糖を含み、少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合であり、各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。特定の実施形態において、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAcコンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

【0161】

特定の実施形態において、化合物は、20個の結合されたヌクレオシドからなり、かつ配列番号1914のうちの少なくとも8個の連続した核酸塩基を含む核酸塩基配列を有する、修飾オリゴヌクレオチドを含み、当該修飾オリゴヌクレオチドは、(a)10個の結合されたデオキシヌクレオシドからなるギャップセグメントと、(b)5個の結合されたヌクレオシドからなる5'-ウイングセグメントと、(c)5個の結合されたヌクレオシドからなる3'-ウイングセグメントとを含み、ここで、ギャップセグメントは、5'-ウイングセグメントと3'-ウイングセグメントとの間に直接隣接して配置され、各ウイングセグメントの各ヌクレオシドは、2'-O-メトキシエチル糖を含み、少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合であり、各シトシン残基は、5-メチルシトシンである。特定の実施形態において、各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAcコンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

【0162】

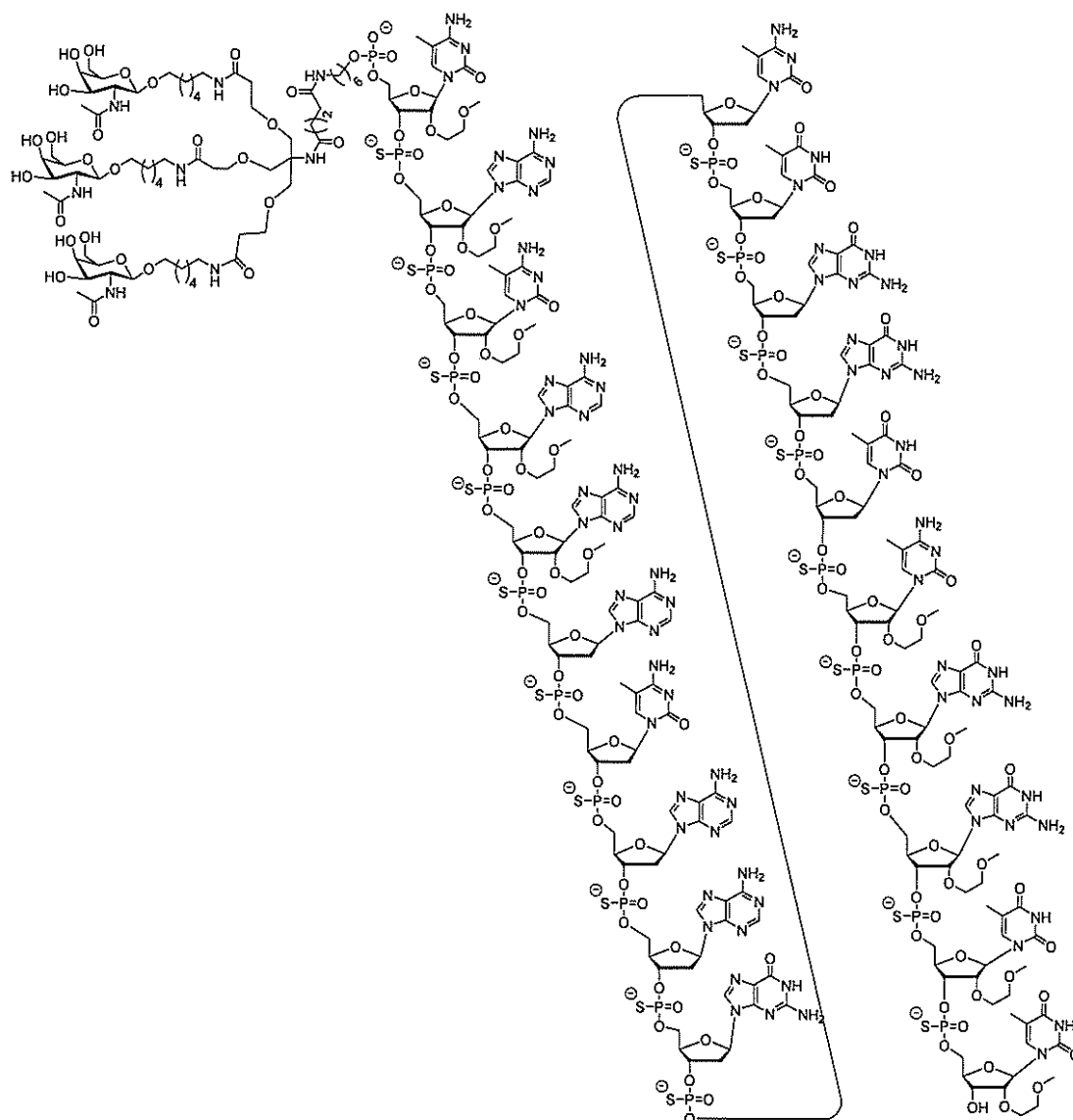
本明細書で開示される特定の実施形態は、次式：mCes Aes mCes Aes Aes Ads mCds Ads Ads Gds mCds Tds Gds Gds Tds mCes Ges Ges Tes Te (配列番号1914) (式中、Aはアデニンであり、mCは5'-メチルシトシンであり、Gはグアニンであり、Tはチミンであり、eは2'-O-メトキシエチル修飾ヌクレオシドであり、dは2'-デオキシヌクレオシドであり、sはホスホロチオエートヌクレオシド間結合である)に従う修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物を提供する。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAcコンジュゲートを更に含む。特定の実施形態において、コンジュゲートは、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートである。特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

【0163】

本明細書で開示される特定の実施形態は、次式を有する修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物を提供する。

【0164】

【化 3】



10

20

30

【0165】

特定の実施形態において、本明細書で開示される化合物または組成物は、修飾オリゴヌクレオチドの塩を含む。

【0166】

特定の実施形態において、本明細書で開示される化合物または組成物は、薬学的に許容される担体または希釈剤を更に含む。

【0167】

特定の実施形態において、動物は、ヒトである。

【0168】

特定の実施形態は、本明細書に記載される修飾オリゴヌクレオチドを含む組成物または化合物を提供し、その粘度は、40 cP未満である。特定の実施形態において、組成物は、15 cP未満の粘度を有する。特定の実施形態において、組成物は、12 cP未満の粘度を有する。特定の実施形態において、組成物は、10 cP未満の粘度を有する。

40

【0169】

本明細書で開示される実施形態は、細胞、組織、器官または動物においてAGTを減少させるのに使用するための、AGTを標的にする修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物及び組成物を提供する。特定の実施形態において、AGTの減少は、RAAS経路関連疾患、障害及び／もしくは病態またはその症状の治療、予防、進行の遅延、発症の遅延及び／または軽減をもたらす。特定の実施形態において、AGTの減少により、高血圧が軽減す

50

る。特定の実施形態において、A G Tの減少により、線維症が軽減または防止される。特定の実施形態において、A G Tの減少により、R A A S経路関連疾患、障害及び／または病態の症状またはマーカーが調節される。特定の実施形態において、マーカーは、寿命短縮、高血圧、慢性腎疾患、脳卒中、心筋梗塞、心不全、心臓弁膜症、血管の動脈瘤、末梢動脈疾患、器官障害ならびに他の心臓血管系疾患、障害及び／もしくは病態またはその症状のうちの1つ以上から選択され得る。

【0170】

特定の実施形態において、治療法に使用するための、A G Tを標的にする修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物及び組成物を提供する。特定の実施形態において、A G Tを標的にする修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物及び組成物は、治療上有効な量で動物に投与される。

10

【0171】

特定の実施形態において、薬剤の調製に使用するための、A G Tを標的にする修飾オリゴヌクレオチドを含む化合物及び組成物を提供する。特定の実施形態において、薬剤は、R A A S経路関連疾患、障害及び／もしくは病態またはその症状の治療、予防、進行の遅延、発症の遅延及び／または軽減のために使用される。

【0172】

特定の実施形態において、R A A S経路関連疾患及び／または病態、疾患、障害または状態を治療、予防または改善するためのキットが提供され、当該キットは、(i) 本明細書に記載されるA G T特異的阻害薬；及び任意に(ii) 本明細書に記載される追加の剤または治療法を含む。本発明のキットは、当該キットを使用して、本明細書に記載されるR A A S経路関連疾患、障害または病態を治療、予防または改善するための説明書を更に含み得る。

20

【0173】

特定の実施形態において、R A A S経路関連疾患、障害または病態は、寿命短縮、高血圧、腎疾患（例えば、慢性腎疾患）、脳卒中、心疾患（例えば、心筋梗塞、心不全、心臓弁膜症）、血管の動脈瘤、末梢動脈疾患、器官障害ならびに他のR A A S関連疾患、障害及び／もしくは病態またはその症状である。特定の実施形態において、高血圧は、非治療抵抗性高血圧または治療抵抗性高血圧である。特定の実施形態において、血管の動脈瘤は、大動脈瘤である。特定の実施形態において、器官障害は、心筋肥大または器官もしくは組織の線維症である。特定の実施形態において、器官は、心臓、肝臓または腎臓であり、組織は、心臓、肝臓または腎臓に由来する。

30

【0174】

化合物は、本明細書に記載される1つ以上の追加の剤または治療法とともに、併用療法で使用することができる。剤または治療法は、同時または順次、動物に施すことができる。特定の実施形態において、A G Tを標的にする修飾オリゴヌクレオチドを含む組成物または化合物は、1つ以上の第2の剤（複数可）と共投与される。特定の実施形態において、第2の剤には、高血圧を軽減させるための処置、食生活の改善、生活習慣の改善、抗線維化薬及び抗高血圧薬、例えば、R A SまたはR A A S阻害薬、利尿薬、カルシウムチャネル拮抗薬、交感神経受容体遮断薬、交感神経作動薬及び血管拡張薬が含まれる。特定の実施形態において、第2の剤は、第2のアンチセンス化合物である。更なる実施形態において、第2のアンチセンス化合物は、A G Tを標的にする。他の実施形態において、第2のアンチセンス化合物は、A G T以外の化合物を標的にする。

40

【0175】

アンチセンス化合物

オリゴマー化合物には、オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオシド、オリゴヌクレオチド類似体、オリゴヌクレオチド模倣物、アンチセンス化合物、アンチセンスオリゴヌクレオチド及びs i R N Aが含まれるが、これらに限定されない。オリゴマー化合物は、標的核酸に対して「アンチセンス」であり得、これは、オリゴマー化合物が水素結合を介して標的核酸にハイブリダイゼーションを起こすことができることを意味する。

50

【0176】

特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、5'から3'の方向で記載される場合、アンチセンス化合物が標的にする標的核酸の標的セグメントの逆相補鎖を含む核酸塩基配列を有する。このような特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、5'から3'の方向で記載される場合、アンチセンス化合物が標的にする標的核酸の標的セグメントの逆相補鎖を含む核酸塩基配列を有する。

【0177】

特定の実施形態において、A G T核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物は、10～30個の長さのヌクレオチドである。言い換えれば、アンチセンス化合物は、10～30個の結合された核酸塩基である。他の実施形態において、アンチセンス化合物は、8～80、10～80、12～50、15～30、18～24、19～22または20個の結合された核酸塩基からなる修飾オリゴヌクレオチドを含む。このような特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79もしくは80個の長さ、または前述の値のうちのいずれか2つによって定義される範囲の結合された核酸塩基からなる修飾オリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、アンチセンス化合物は、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

【0178】

特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、短縮型または切断型修飾オリゴヌクレオチドを含む。短縮型または切断型修飾オリゴヌクレオチドは、5'末端(5'切断)、中央部分または3'末端(3'切断)から欠失した1つのヌクレオシドを有し得る。短縮型または切断型オリゴヌクレオチドは、5'末端から欠失した2つ以上のヌクレオシドを有し得、中央部分から欠失した2つ以上のヌクレオシドを有し得、あるいは3'末端から欠失した2つ以上のヌクレオシドを有し得る。あるいは、例えば、5'末端から1つ以上のヌクレオシドを欠失させ、中央部分から1つ以上のヌクレオシドを欠失させ、かつ／または3'末端から1つ以上のヌクレオシドを欠失させたアンチセンス化合物のように、欠失されたヌクレオシドが修飾オリゴヌクレオチド全体に分散していてもよい。

【0179】

延長型オリゴヌクレオチド中に1つの追加のヌクレオシドが存在する場合、その追加のヌクレオシドは、当該オリゴヌクレオチドの5'末端、3'末端または中央部分に位置し得る。2つ以上の追加のヌクレオシドが存在する場合、その追加ヌクレオシドは、例えば、当該オリゴヌクレオチドの5'末端(5'付加)、3'末端(3'付加)または中央部分に2つのヌクレオシドが追加されたオリゴヌクレオチドのように、互いに隣接していてもよい。あるいは、例えば、5'末端に1つ以上のヌクレオシドを追加し、3'末端に1つ以上のヌクレオシドを追加し、かつ／または中央部分に1つ以上のヌクレオシドを追加したオリゴヌクレオチドのように、追加ヌクレオシドがアンチセンス化合物全体に分散していてもよい。

【0180】

活性を取り除くことなく、アンチセンスオリゴヌクレオチドなどのアンチセンス化合物の長さを増加もしくは減少させること、及び／またはミスマッチ塩基を導入することが可能である。例えば、Woolfら(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 7305-7309, 1992)では、卵母細胞注入モデルにおける標的RNAの切断を誘導する能力について、13～25核酸塩基長の一連のアンチセンスオリゴヌクレオチドが試験された。アンチセンスオリゴヌクレオチドの末端近傍に8または11個のミスマッチ塩基を含む25核酸塩基長のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、ミスマッチを含有しないアンチセンスオリゴヌクレオチドよりも程度が小さいものの、標的mRNAの特異

的切断を導くことができた。同様に、1または3個のミスマッチを含むものを含む、13核酸塩基のアンチセンスオリゴヌクレオチドを使用した場合も、標的特異的切断が達成された。

【0181】

Gautschiら(J. Natl. Cancer Inst. 93:463-471, March 2001)は、bcl-2 mRNAに対して100%の相補性を有し、かつbcl-xL mRNAに対して3つのミスマッチを有するオリゴヌクレオチドがin vitro及びin vivoで、bcl-2とbcl-xLの両方の発現を減少させることができることを明らかにした。更に、このオリゴヌクレオチドは、in vivoで、強力な抗腫瘍活性を示した。

10

【0182】

Maher及びDolnick(Nuc. Acids. Res. 16:3341-3358, 1988)は、ウサギ網状赤血球アッセイでヒトDHFRの翻訳を阻止する能力について、一連の14核酸塩基タンデムアンチセンスオリゴヌクレオチドと、それぞれ2つまたは3つの当該タンデムアンチセンスオリゴヌクレオチドの配列からなる28及び42核酸塩基のアンチセンスオリゴヌクレオチドとを試験した。28または42核酸塩基のアンチセンスオリゴヌクレオチドよりも控えめな程度であったが、3つの14核酸塩基のアンチセンスオリゴヌクレオチドのそれぞれは、単独でも翻訳を阻害することができた。

【0183】

特定のアンチセンス化合物モチーフ及び機序

20

特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、阻害活性の向上、標的核酸に対する結合親和性の増大、またはin vivoヌクレアーゼによる分解に対する耐性などの特性をアンチセンス化合物に付与するために、パターンまたはモチーフで配置された化学修飾サブユニットを有する。

【0184】

キメラアンチセンス化合物は、典型的に、ヌクレアーゼ分解に対する耐性の増大、細胞取込みの増加、標的核酸に対する結合親和性の増大及び／または阻害活性の増大を付与するように修飾された領域を少なくとも1つ含有する。キメラアンチセンス化合物の第2の領域は、例えば、RNA:DNA二重鎖のRNA鎖を切断する細胞エンドヌクレアーゼRNase Hの基質として機能するなど、別の所望の特性を付与することができる。

30

【0185】

アンチセンス活性は、アンチセンス化合物(例えば、オリゴヌクレオチド)の標的核酸とのハイブリダイゼーションを含み、このハイブリダイゼーションが最終的に生物学的作用をもたらす、任意の機序から生じ得る。特定の実施形態において、標的核酸の量及び／または活性が調節される。特定の実施形態において、標的核酸の量及び／または活性が減少する。特定の実施形態において、アンチセンス化合物の標的核酸へのハイブリダイゼーションは、最終的に、標的核酸の分解をもたらす。特定の実施形態において、アンチセンス化合物の標的核酸へのハイブリダイゼーションは、標的核酸の分解を生じない。このような特定の実施形態において、標的核酸にハイブリダイズしたアンチセンス化合物の存在(占有)は、アンチセンス活性の調節をもたらす。特定の実施形態において、特定の化学モチーフまたは化学修飾のパターンを有するアンチセンス化合物は、1つ以上の機序を活用するのに特に適している。特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、2つ以上の機序を介して機能し、かつ／または解明されていない機序を介して機能する。したがって、本明細書に記載されるアンチセンス化合物は、特定の機序に限定されない。

40

【0186】

アンチセンス機序には、限定するものではないが、RNase H媒介性アンチセンス; RISC経路を活用し、限定するものではないが、siRNA、ssRNA及びmicroRNA機序を含む、RNAi機序; ならびに占有に基づく機序が含まれる。特定のアンチセンス化合物は、このような機序の2つ以上を介して、及び／または更なる機序を介して作用し得る。

50

【0187】

RNase H媒介性アンチセンス

特定の実施形態において、アンチセンス活性は、少なくとも部分的には、RNase Hによる標的RNAの分解から生じる。RNase Hは、RNA:DNA二本鎖のRNA鎖を切断する細胞エンドヌクレアーゼである。「DNA様」である一本鎖アンチセンス化合物が哺乳動物細胞においてRNase H活性を誘発することは、当該技術分野において知られている。したがって、DNAまたはDNA様ヌクレオシドの少なくとも一部を含むアンチセンス化合物は、RNase Hを活性化し、標的核酸の切断をもたらすことができる。特定の実施形態において、RNase Hを活用するアンチセンス化合物は、1つ以上の修飾ヌクレオシドを含む。特定の実施形態において、かかるアンチセンス化合物は、1～8個の修飾ヌクレオシドのブロックを少なくとも1つ有する。このような特定の実施形態において、修飾ヌクレオシドは、RNase H活性を支援しない。特定の実施形態において、かかるアンチセンス化合物は、本明細書に記載されるようなギャップマーである。このような特定の実施形態において、ギャップマーのギャップは、DNAヌクレオシドを含む。このような特定の実施形態において、ギャップマーのギャップは、DNA様ヌクレオシドを含む。このような特定の実施形態において、ギャップマーのギャップは、DNAヌクレオシド及びDNA様ヌクレオシドを含む。

10

【0188】

ギャップマーモチーフを有する特定のアンチセンス化合物は、キメラアンチセンス化合物とみなされる。ギャップマーにおいて、RNase H切断を支援する複数のヌクレオチドを有する内側領域は、その内側領域のヌクレオシドとは化学的に異なる複数のヌクレオチドを有する外側領域の間に配置されている。ギャップマーモチーフを有するアンチセンスオリゴヌクレオチドの場合、ギャップセグメントは、通常、エンドヌクレアーゼ切断の基質として機能し、一方、ウイングセグメントは、修飾ヌクレオシドを含む。特定の実施形態において、ギャップマーの領域は、それぞれ異なる領域を含む糖部分の種類によって区別される。ギャップマーの領域を区別するために使用される糖部分の種類には、いくつかの実施形態において、 β -D-リボヌクレオシド、 β -D-デオキシリボヌクレオシド、2'-修飾ヌクレオシド（このような2'-修飾ヌクレオシドには、とりわけ、2'-MOE及び2'-O-CH₃が含まれ得る）、及び二環式糖修飾ヌクレオシド（このような二環式糖修飾ヌクレオシドには、拘束エチルを有するものなどが含まれ得る）が含まれ得る。特定の実施形態において、ウイングのヌクレオシドは、例えば、2'-MOE、及び拘束エチル(cEt)またはLNAなどの二環式糖部分を含む、いくつかの修飾糖部分を含み得る。特定の実施形態において、ウイングは、いくつかの修飾及び非修飾糖部分を含み得る。特定の実施形態において、ウイングは、2'-MOEヌクレオシド、拘束エチルヌクレオシドまたはLNAヌクレオシドなどの二環式糖部分、及び2'-デオキシヌクレオシドの種々の組み合わせを含み得る。

20

30

【0189】

それぞれ異なる領域は、一様な糖部分、変形形態または交互糖部分を含み得る。ウイング-ギャップ-ウイングモチーフは、「X-Y-Z」と記載されることが多く、ここで、「X」は、5'-ウイングの長さを表し、「Y」は、ギャップの長さを表し、「Z」は、3'-ウイングの長さを表す。「X」及び「Z」は、一様な糖部分、変形形態または交互糖部分を含み得る。特定の実施形態において、「X」及び「Y」は、1つ以上の2'-デオキシヌクレオシドを含み得る。「Y」は、2'-デオキシヌクレオシドを含み得る。本明細書で使用されるとき、「X-Y-Z」と記載されるギャップマーは、ギャップが5'-ウイング及び3'-ウイングのそれぞれに直接隣接して配置されるような構成を有する。したがって、5'-ウイングとギャップの間、またはギャップと3'-ウイングに間に介在するヌクレオチドは存在しない。本明細書に記載されるアンチセンス化合物はいずれもギャップマーモチーフを有し得る。特定の実施形態において、「X」と「Z」は同じであり、他の実施形態において、「X」と「Z」は異なる。特定の実施形態において、「Y」は、8～15個のヌクレオシドである。X、YまたはZは、1、2、3、4、5、6、7

40

50

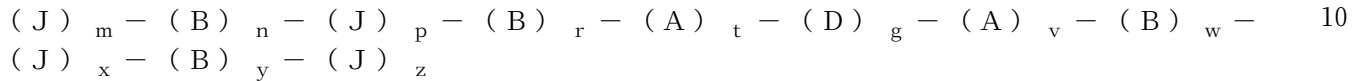
、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30個またはそれ以上のヌクレオシドのいずれかであり得る。

【0190】

特定の実施形態において、A G T 核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物は、ギャップが6、7、8、9、10、11、12、13、14、15または16個の結合されたヌクレオシドからなるギャップマーモチーフを有する。

【0191】

特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、以下の式Aに示す糖モチーフを有する。



式中、

各Aは、独立して、2'-置換ヌクレオシドであり、

各Bは、独立して、二環式ヌクレオシドであり、

各Jは、独立して、2'-置換ヌクレオシドまたは2'-デオキシヌクレオシドのいずれかであり、

各Dは、2'-デオキシヌクレオシドであり、

mは0～4であり、nは0～2であり、pは0～2であり、rは0～2であり、tは0～2であり、vは0～2であり、wは0～4であり、xは0～2であり、yは0～2であり、zは0～4であり、gは6～14であり、

20

ただし、

m、n及びrのうちの少なくとも1つは、0以外であり、

w及びyのうちの少なくとも1つは、0以外であり、

m、n、p、r及びtの合計は、2～5であり、

v、w、x、y及びzの合計は、2～5である。

【0192】

RNAi化合物

特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、干渉RNA化合物(RNAi)であり、これには、二本鎖RNA化合物(短い干渉RNAまたはsiRNAとも呼ばれる)及び一本鎖RNAi化合物(すなわち、ssRNA)が含まれる。このような化合物は、少なくとも部分的にRISC経路を介して作用し、標的核酸を分解及び／または隔離する(したがって、microRNA/microRNA模倣体化合物を含む)。特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、当該アンチセンス化合物をこのような機序に特に適するようにする修飾を含む。

30

【0193】

i. ssRNA化合物

特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、一本鎖RNAi化合物(ssRNA)としての使用に特に適したものを含め、修飾された5'末端を含む。このような特定の実施形態において、5'末端は、修飾リン酸部分を含む。特定の実施形態において、このような修飾リン酸は、安定化する(例えば、非修飾5'-リン酸と比較して分解/切断に耐性がある)。特定の実施形態において、このような5'末端ヌクレオシドは、5'-リン部分を安定化させる。特定の修飾5'末端ヌクレオシドは、当該技術分野において、例えば、WO2011/139702に認めることができる。

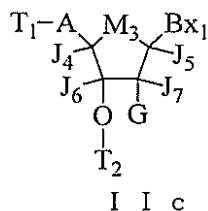
40

【0194】

特定の実施形態において、ssRNA化合物の5'-ヌクレオシドは、式IIcを有する。

【0195】

【化 4】



【0196】

式中、

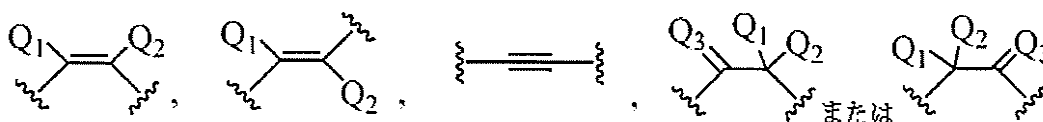
T₁ は、任意に保護されたリン部分であり、

T₂ は、式 I I c の化合物をオリゴマー化合物に結合するヌクレオシド間結合基であり、

A は、次式のうちの 1 つを有し、

【0197】

【化 5】



【0198】

Q₁ 及び Q₂ は、それぞれ独立して、H、ハロゲン、C₁～C₆ アルキル、置換 C₁～C₆ アルキル、C₁～C₆ アルコキシ、置換 C₁～C₆ アルコキシ、C₂～C₆ アルケニル、置換 C₂～C₆ アルケニル、C₂～C₆ アルキニル、置換 C₂～C₆ アルキニルまたは N(R₃)(R₄) であり、

Q₃ は、O、S、N(R₅) または C(R₆)(R₇) であり、

各 R₃、R₄、R₅、R₆ 及び R₇ は、独立して、H、C₁～C₆ アルキル、置換 C₁～C₆ アルキルまたは C₁～C₆ アルコキシであり、

M₃ は、O、S、NR₁₄、C(R₁₅)(R₁₆)、C(R₁₅)(R₁₆)C(R₁₇)(R₁₈)、C(R₁₅)=C(R₁₇)、OC(R₁₅)(R₁₆) または OC(R₁₅)(Bx₂) であり、

R₁₄ は、H、C₁～C₆ アルキル、置換 C₁～C₆ アルキル、C₁～C₆ アルコキシ、置換 C₁～C₆ アルコキシ、C₂～C₆ アルケニル、置換 C₂～C₆ アルケニル、C₂～C₆ アルキニルまたは置換 C₂～C₆ アルキニルであり、

R₁₅、R₁₆、R₁₇ 及び R₁₈ は、それぞれ独立して、H、ハロゲン、C₁～C₆ アルキル、置換 C₁～C₆ アルキル、C₁～C₆ アルコキシ、置換 C₁～C₆ アルコキシ、C₂～C₆ アルケニル、置換 C₂～C₆ アルケニル、C₂～C₆ アルキニルまたは置換 C₂～C₆ アルキニルであり、

Bx₁ は、複素環式塩基部分であり、

あるいは、Bx₂ が存在する場合、Bx₂ は、複素環式塩基部分であり、Bx₁ は、H、ハロゲン、C₁～C₆ アルキル、置換 C₁～C₆ アルキル、C₁～C₆ アルコキシ、置換 C₁～C₆ アルコキシ、C₂～C₆ アルケニル、置換 C₂～C₆ アルケニル、C₂～C₆ アルキニルまたは置換 C₂～C₆ アルキニルであり、

J₄、J₅、J₆ 及び J₇ は、それぞれ独立して、H、ハロゲン、C₁～C₆ アルキル、置換 C₁～C₆ アルキル、C₁～C₆ アルコキシ、置換 C₁～C₆ アルコキシ、C₂～C₆ アルケニル、置換 C₂～C₆ アルケニル、C₂～C₆ アルキニルまたは置換 C₂～C₆ アルキニルであり、

あるいは、J₄ は、J₅ または J₇ のうちの 1 つと架橋を形成し、ここで、当該架橋は、O、S、NR₁₉、C(R₂₀)(R₂₁)、C(R₂₀)=C(R₂₁)、C[=C(R₂₀)(R₂₁)] 及び C(=O) から選択される 1～3 個の結合された二価基を含み、J₅、J₆ 及び J₇ のうちの他の 2 つは、それぞれ独立して、H、ハロゲン、C₁～C₆ アルキル、置換 C₁～C₆ アルキル、C₁～C₆ アルコキシ、置換 C₁～C₆ アルコキ

10

20

30

40

50

シ、 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、置換 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、 $C_2 \sim C_6$ アルキニルまたは置換 $C_2 \sim C_6$ アルキニルであり、

各 R_{19} 、 R_{20} 及び R_{21} は、独立して、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、置換 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、置換 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、置換 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、 $C_2 \sim C_6$ アルキニルまたは置換 $C_2 \sim C_6$ アルキニルであり、

G は、H、OH、ハロゲンまたは $O - [C(R_8)(R_9)]_n - [(C=O)_m - X_1]_j - Z$ であり、

各 R_8 及び R_9 は、独立して、H、ハロゲン、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは置換 $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、

X_1 は、O、S または $N(E_1)$ であり、

Z は、H、ハロゲン、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、置換 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、置換 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、 $C_2 \sim C_6$ アルキニル、置換 $C_2 \sim C_6$ アルキニルまたは $N(E_2)(E_3)$ であり、

E_1 、 E_2 及び E_3 は、それぞれ独立して、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキルまたは置換 $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、

n は、1 ～ 約 6 であり、

m は、0 または 1 であり、

j は、0 または 1 であり、

各置換基は、ハロゲン、 OJ_1 、 $N(J_1)(J_2)$ 、 $=NJ_1$ 、 SJ_1 、 N_3 、 CN 、 $OC(=X_2)J_1$ 、 $OC(=X_2)N(J_1)(J_2)$ 及び $C(=X_2)N(J_1)(J_2)$ から独立して選択される任意に保護された置換基を 1 つ以上含み、

X_2 は、O、S または NJ_3 であり、

各 J_1 、 J_2 及び J_3 は、独立して、H または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、

j が 1 であるとき、Z はハロゲンまたは $N(E_2)(E_3)$ 以外であり、

当該オリゴマー化合物は、8 ～ 40 個のモノマーサブユニットを含み、標的核酸の少なくとも一部にハイブリダイズ可能である。

【0199】

特定の実施形態において、 M_3 は、O、 $CH=CH$ 、 OCH_2 または $OC(H)(Bx_2)$ である。特定の実施形態において、 M_3 は、O である。

【0200】

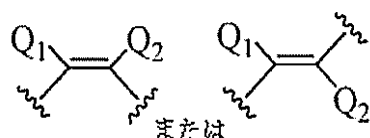
特定の実施形態において、 J_4 、 J_5 、 J_6 及び J_7 は、それぞれ H である。特定の実施形態において、 J_4 は、 J_5 または J_7 のうちの 1 つと架橋を形成する。

【0201】

特定の実施形態において、A は、次式のうちの 1 つを有する。

【0202】

【化 6】



【0203】

式中、

Q_1 及び Q_2 は、それぞれ独立して、H、ハロゲン、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、置換 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシまたは置換 $C_1 \sim C_6$ アルコキシである。特定の実施形態において、 Q_1 及び Q_2 は、それぞれ H である。特定の実施形態において、 Q_1 及び Q_2 は、それぞれ独立して、H またはハロゲンである。特定の実施形態において、 Q_1 及び Q_2 は H であり、 Q_1 及び Q_2 の一方は F、 CH_3 または OCH_3 である。

【0204】

特定の実施形態において、 T_1 は、次式を有する。

10

20

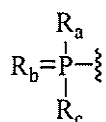
30

40

50

【0205】

【化7】



【0206】

式中、

R_a 及び R_c は、それぞれ独立して、保護ヒドロキシル、保護チオール、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、置換 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、置換 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、保護アミノまたは置換アミノであり、

R_b は、O または S である。特定の実施形態において、 R_b は O であり、 R_a 及び R_c は、それぞれ独立して、 OCH_3 、 OCH_2CH_3 または $CH(CH_3)_2$ である。

【0207】

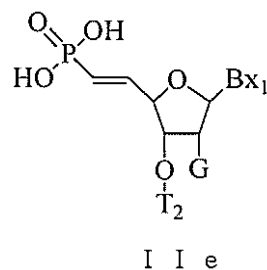
特定の実施形態において、G は、ハロゲン、 OCH_3 、 OCH_2F 、 $OCHF_2$ 、 OCF_3 、 OCH_2CH_3 、 $O(CH_2)_2F$ 、 OCH_2CHF_2 、 OCH_2CF_3 、 $OCH_2-CH=CH_2$ 、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、 $O(CH_2)_2-SCH_3$ 、 $O(CH_2)_2-OCF_3$ 、 $O(CH_2)_3-N(R_{10})(R_{11})$ 、 $O(CH_2)_2-ON(R_{10})(R_{11})$ 、 $O(CH_2)_2-O(CH_2)_2-N(R_{10})(R_{11})$ 、 $OCH_2C(=O)-N(R_{10})(R_{11})$ 、 $OCH_2C(=O)-N(R_{12})-(CH_2)_2-N(R_{10})(R_{11})$ または $O(CH_2)_2-N(R_{12})-C(=NR_{13})[N(R_{10})(R_{11})]$ (式中、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} は、それぞれ独立して、H または $C_1 \sim C_6$ アルキルである) である。特定の実施形態において、G は、ハロゲン、 OCH_3 、 OCF_3 、 OCH_2CH_3 、 OCH_2CF_3 、 $OCH_2-CH=CH_2$ 、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ 、 $O(CH_2)_2-O(CH_2)_2-N(CH_3)_2$ 、 $OCH_2C(=O)-N(H)CH_3$ 、 $OCH_2C(=O)-N(H)-(CH_2)_2-N(CH_3)_2$ または $OCH_2-N(H)-C(=NH)NH_2$ である。特定の実施形態において、G は、F、 OCH_3 または $O(CH_2)_2-OCH_3$ である。特定の実施形態において、G は、 $O(CH_2)_2-OCH_3$ である。

【0208】

特定の実施形態において、5' 末端ヌクレオシドは、式 I I e を有する。

【0209】

【化8】



【0210】

特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、ssRNA に特に適したものを含め、オリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って所定のパターンまたは所定の糖修飾モチーフで配置された、1 種以上の修飾糖部分及び／または天然に生じる糖部分を含む。かかるモチーフは、本明細書で考察される糖修飾及び／または他の周知の糖修飾のいずれかを含み得る。

【0211】

特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、一様な糖修飾を有する領域を含むか、当該領域からなる。このような特定の実施形態において、当該領域の各ヌクレオチドは

、同じRNA様糖修飾を含む。特定の実施形態において、当該領域の各ヌクレオシドは、2'-Fヌクレオシドである。特定の実施形態において、当該領域の各ヌクレオシドは、2'-OMeヌクレオシドである。特定の実施形態において、当該領域の各ヌクレオシドは、2'-MOEヌクレオシドである。特定の実施形態において、当該領域の各ヌクレオシドは、cEtヌクレオシドである。特定の実施形態において、当該領域の各ヌクレオシドは、LNAヌクレオシドである。特定の実施形態において、一様な領域は、オリゴヌクレオチドの全てを構成するか、オリゴヌクレオチドの全てを本質的に構成する。特定の実施形態において、当該領域は、1～4末端ヌクレオシドを除く、オリゴヌクレオチド全体を構成する。

【0212】

特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、第1の種類の糖修飾を有するヌクレオチドと第2の種類の糖修飾を有するヌクレオチドでヌクレオシドが交互に繰り返される、1つ以上の交互糖修飾領域を含む。特定の実施形態において、ヌクレオシドは、両種類ともRNA様ヌクレオシドである。特定の実施形態において、交互ヌクレオシドは、2'-OMe、2'-F、2'-MOE、LNA及びcEtから選択される。特定の実施形態において、交互修飾は、2'-Fと2'-OMeである。かかる領域は、連続的であってもよいし、異なる修飾ヌクレオシドまたはコンジュゲートヌクレオシドによって中断されてもよい。

【0213】

特定の実施形態において、交互修飾の交互領域は、それぞれ1つのヌクレオシドからなる（すなわち、パターンは、 $(AB)_x A_y$ であり、式中、Aは、第1の種類の糖修飾を有するヌクレオシドであり、Bは、第2の種類の糖修飾を有するヌクレオシドであり、xは1～20であり、yは0または1である）。特定の実施形態において、交互モチーフ中の1つ以上の交互領域は、ある種類のヌクレオシドを2つ以上含む。例えば、オリゴヌクレオチドは、以下のヌクレオシドモチーフのうちのいずれかの領域を1つ以上含み得る。

ABBA A ;

ABBA BB ;

ABBA AB ;

ABBA BA AB B ;

ABBA A A ;

ABBA BAB ;

ABBA A A ;

ABBA ABBA BA BA A A ;

BA BB A A BB A B A B A A ; または

AB A BB A A BB A B A B A A ;

ここで、Aは第1の種類のヌクレオシドであり、Bは第2の種類のヌクレオシドである。

【0214】

特定の実施形態において、A及びBは、2'-F、2'-OMe、BNA及びMOEからそれぞれ選択される。

【0215】

特定の実施形態において、このような交互モチーフを有するオリゴヌクレオチドは、式IIcまたはIIEのものなどの修飾された5'末端ヌクレオシドも含む。

【0216】

特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、2-2-3モチーフを有する領域を含む。かかる領域は、以下のモチーフを含む。

$-(A)_2-(B)_x-(A)_2-(C)_y-(A)_3-$

式中、Aは、第1の種類の修飾ヌクレオシドであり、

B及びCは、Aとは異なる修飾のヌクレオシドであるが、B及びCは、互いに同じ修飾を有してもよいし、互いに異なる修飾を有してもよく、

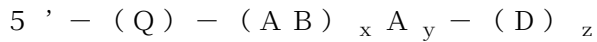
x及びyは、1～15である。

【0217】

特定の実施形態において、Aは、2'-OMe修飾ヌクレオシドである。特定の実施形態において、B及びCは、いずれも2'-F修飾ヌクレオシドである。特定の実施形態において、Aは、2'-OMe修飾ヌクレオシドであり、B及びCは、いずれも2'-F修飾ヌクレオシドである。

【0218】

特定の実施形態において、オリゴヌクレオシドは、以下の糖モチーフを有する。



式中、

Qは、安定化されたリン酸部分を含むヌクレオシドである。特定の実施形態において、Qは、式I I cまたはI I eを有するヌクレオシドであり、

Aは、第1の種類の修飾ヌクレオシドであり、

Bは、第2の種類の修飾ヌクレオシドであり、

Dは、隣接するヌクレオシドとは異なる修飾を含む修飾ヌクレオシドである。したがって、yが0の場合、DはBとは異なる修飾である必要があり、yが1の場合、DはAとは異なる修飾である必要がある。特定の実施形態において、Dは、AとBの両方と異なる。

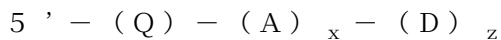
Xは、5～15であり、

Yは、0または1であり、

Zは、0～4である。

【0219】

特定の実施形態において、オリゴヌクレオシドは、以下の糖モチーフを有する。



式中、

Qは、安定化されたリン酸部分を含むヌクレオシドである。特定の実施形態において、Qは、式I I cまたはI I eを有するヌクレオシドであり、

Aは、第1の種類の修飾ヌクレオシドであり、

Dは、Aとは異なる修飾を含む修飾ヌクレオシドである。

Xは、11～30であり、

Zは、0～4である。

【0220】

特定の実施形態において、上記モチーフ中のA、B、C及びDは、2'-OMe、2'-F、2'-MOE、LNA及びcEtから選択される。特定の実施形態において、Dは、末端ヌクレオシドを表す。特定の実施形態において、かかる末端ヌクレオシドは、標的核酸にハイブリダイズしないように設計する（ただし、1つ以上は偶然にハイブリダイズし得る）。特定の実施形態において、各Dヌクレオシドの核酸塩基は、標的核酸の対応する位置での核酸塩基の同一性にかかわらず、アデニンである。特定の実施形態において、各Dヌクレオシドの核酸塩基は、チミンである。

【0221】

特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、ssRNAとしての使用に特に適したものを含め、オリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って所定のパターンまたは所定の修飾ヌクレオシド間結合モチーフで配置された修飾ヌクレオシド間結合を含む。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、交互ヌクレオシド間結合モチーフを有する領域を含む。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、一様に修飾されたヌクレオシド間結合の領域を含む。このような特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって一様に結合された領域を含む。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合によって一様に結合される。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、ホスホジエステル及びホスホロチオエートから選択される。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、ホスホジエステル及びホスホロチオエートから選択され、少なくとも1つのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートであ

る。

【0222】

特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも6個のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも8個のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも10個のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも6個の連続するホスホロチオエートヌクレオシド間結合のブロックを少なくとも1つ含む。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも8個の連続するホスホロチオエートヌクレオシド間結合のブロックを少なくとも1つ含む。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも10個の連続するホスホロチオエートヌクレオシド間結合のブロックを少なくとも1つ含む。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、少なくとも12個の連続するホスホロチオエートヌクレオシド間結合のブロックを少なくとも1つ含む。このような特定の実施形態において、少なくとも1つの当該ブロックは、オリゴヌクレオチドの3'末端に位置する。このような特定の実施形態において、少なくとも1つの当該ブロックは、オリゴヌクレオチドの3'末端の3ヌクレオシド以内に位置する。

10

【0223】

本明細書に記載される種々の糖モチーフのいずれかを有するオリゴヌクレオチドは、任意の結合モチーフを有し得る。例えば、上記のものを含むが、これらに限定されないオリゴヌクレオチドは、非限定的な以下の表から選択される結合モチーフを有し得る。

20

【0224】

【表1】

最も5'側の結合	中央領域	3' - 領域
P S	交互 P O / P S	6 P S
P S	交互 P O / P S	7 P S
P S	交互 P O / P S	8 P S

【0225】

i i . s i R N A 化合物

30

特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、二本鎖RNA i 化合物 (s i R N A) である。このような実施形態において、一方または両方の鎖は、s s R N A に関して上記した任意の修飾モチーフを含み得る。特定の実施形態において、s s R N A 化合物は、非修飾RNAであり得る。特定の実施形態において、s i R N A 化合物は、非修飾RNAヌクレオシドを含むが、修飾ヌクレオシド間結合を含み得る。

【0226】

いくつかの実施形態は、二本鎖組成物に関し、各鎖は、1つ以上の修飾または非修飾ヌクレオシドの位置によって定義されるモチーフを含む。特定の実施形態において、完全にまたは少なくとも部分的にハイブリダイズして2本鎖領域を形成する第1及び第2のオリゴマー化合物を含み、核酸標的に対して相補的であり、かつハイブリダイズする領域を更に含む、組成物が提供される。このような組成物は、核酸標的に対して完全な相補性または部分的な相補性を有するアンチセンス鎖である第1のオリゴマー化合物と、第1のオリゴマー化合物に対して相補性のある1つ以上の領域を有し、かつ第1のオリゴマー化合物と少なくとも1つの2本鎖領域を形成するセンス鎖である第2のオリゴマー化合物とを含むのが好適である。

40

【0227】

いくつかの実施形態の組成物は、核酸標的にハイブリダイズすることによって遺伝子発現を調節し、その通常の機能の消失をもたらす。いくつかの実施形態において、標的核酸は、A G T である。特定の実施形態において、標的A G T の分解は、本発明の組成物と一緒に形成される活性化R I S C 複合体によって促進される。

50

【0228】

いくつかの実施形態は、二本鎖組成物に関し、鎖の一方は、対の鎖のRISC（または切断）複合体への優先的な積み込みに影響を与えるのに有用である。組成物は、選択された核酸分子を標的にし、1つ以上の遺伝子の発現を調節するのに有用である。いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、標的RNAの一部にハイブリダイズし、これにより、標的RNAの通常の機能の消失をもたらす。

【0229】

特定の実施形態は、二本鎖組成物に関し、両方の鎖は、ヘミマーモチーフ、完全に修飾されたモチーフ、位置的に修飾されたモチーフまたは交互モチーフを含む。本発明の組成物の各鎖は、例えばsiRNA経路において、特定の役割を果たすように修飾され得る。各鎖中に異なるモチーフを用いることにより、または各鎖中に異なる化学修飾を含む同じモチーフを用いることにより、センス鎖の取込みを阻害しつつ、アンチセンス鎖のRISC複合体に対する標的化が可能となる。このモデルでは、各鎖は、その特定の役割を強化するように独立して修飾され得る。アンチセンス鎖は、5'末端をRISCのある領域での役割を強化するように修飾することができ、一方、3'末端は、RISCの異なる領域での役割を強化するように異なる修飾を施すことができる。

【0230】

二本鎖オリゴヌクレオチド分子は、自己相補的なセンス領域とアンチセンス領域とを含む二本鎖ポリヌクレオチド分子であり得、ここで、アンチセンス領域は、標的核酸分子またはその一部中のヌクレオチド配列に対して相補的なヌクレオチド配列を含み、センス領域は、標的核酸配列またはその一部に対応するヌクレオチド配列を有する。二本鎖オリゴヌクレオチド分子は、一方の鎖がセンス鎖であり、他方の鎖がアンチセンス鎖である、2つの別個のオリゴヌクレオチドから組み立てることができ、アンチセンス鎖及びセンス鎖は、自己相補的であり（すなわち、各鎖は、もう一方の鎖中のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含み；例えば、アンチセンス鎖とセンス鎖は、二本鎖または二本鎖構造を形成し、例えば、二本鎖領域は、約15～約30、例えば、約15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30個の塩基対であり；アンチセンス鎖は、標的核酸分子またはその一部中のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含み、センス鎖は、標的核酸配列またはその一部に対応するヌクレオチド配列を含む（例えば、二本鎖オリゴヌクレオチド分子の約15～約25個以上のヌクレオチドは、標的核酸またはその一部に対して相補的である）。あるいは、二本鎖オリゴヌクレオチドは、1つのオリゴヌクレオチドから組み立てられ、siRNAの自己相補的なセンス領域及びアンチセンス領域は、核酸ベースまたは非核酸ベースのリンカー（複数可）によって結合される。

【0231】

二本鎖オリゴヌクレオチドは、自己相補的なセンス領域及びアンチセンス領域を有する二本鎖、非対称二本鎖、ヘアピンまたは非対称ヘアピン二次構造のポリヌクレオチドであってよく、ここで、アンチセンス領域は、別個の標的核酸分子またはその一部中のヌクレオチド配列に対して相補的なヌクレオチド配列を含み、センス領域は、標的核酸配列またはその一部に対応するヌクレオチド配列を有する。二本鎖オリゴヌクレオチドは、2つ以上のループ構造及び自己相補的なセンス領域及びアンチセンス領域を含むシステムを有する環状一本鎖ポリヌクレオチドであり得、ここで、アンチセンス領域は、標的核酸分子またはその一部中のヌクレオチド配列に対して相補的なヌクレオチド配列を含み、センス領域は、標的核酸配列またはその一部に対応するヌクレオチド配列を有し、環状ポリヌクレオチドは、*in vivo*または*in vitro*のいずれかでプロセッシングを受けて、RNAiを媒介することが可能な活性siRNA分子を生成することができる。

【0232】

特定の実施形態において、二本鎖オリゴヌクレオチドは、別個のセンス及びアンチセンス配列または領域を含み、ここで、センス及びアンチセンス領域は、当該技術分野において知られているヌクレオチドまたは非ヌクレオチドリinker分子によって共有結合される

か、イオン相互作用、水素結合、ファンデルワールス相互作用、疎水性相互作用及び／またはスタッキング相互作用によって交互に非共有結合される。特定の実施形態において、二本鎖オリゴヌクレオチドは、標的遺伝子のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含む。別の実施形態において、二本鎖オリゴヌクレオチドは、標的遺伝子の発現の阻害を生じさせるような形で、標的遺伝子のヌクレオチド配列と相互作用する。

【0233】

本明細書で使用されるとき、二本鎖オリゴヌクレオチドは、RNAのみを含有する分子に限定されるものではなく、化学修飾ヌクレオチド及び非ヌクレオチドを更に包含する。特定の実施形態において、低分子干渉核酸分子は、2'-ヒドロキシ(2'-OH)含有ヌクレオチドを含まない。特定の実施形態において、低分子干渉核酸は、所望により、任意のリボヌクレオチド(例えば、2'-OH基を有するヌクレオチド)を含まない。しかしながら、RNAiを支援する分子内にリボヌクレオチドの存在を必要としないこのような二本鎖オリゴヌクレオチドは、2'-OH基を含むヌクレオチドを1つ以上含有する、1つ以上の結合リンカーまたは他の結合もしくは会合した基、部分もしくは鎖を有し得る。任意に、二本鎖オリゴヌクレオチドは、ヌクレオチド位置の約5、10、20、30、40または50%にリボヌクレオチドを含み得る。本明細書で使用されるとき、siRNAという用語は、配列特異的RNAiを媒介することが可能な核酸分子を記載するために使用される他の用語、例えば、短い干渉RNA(sRNA)、二本鎖RNA(dsRNA)、microRNA(miRNA)、小ヘアピンRNA(shRNA)、短い干渉オリゴヌクレオチド、短い干渉核酸、短い干渉修飾オリゴヌクレオチド、化学修飾siRNA、転写後遺伝子サイレンシングRNA(ptgsRNA)及びその他と同等であることが意図される。更に、本明細書で使用されるとき、RNAiという用語は、転写後遺伝子サイレンシング、翻訳阻害またはエピジェネティクスなどの配列特異的RNA干渉を記載するために使用される他の用語と同等であることが意図される。例えば、二本鎖オリゴヌクレオチドを使用して、転写後レベル及び転写前レベルの両方でエピジェネティックな遺伝子サイレンシングを行うことができる。非限定的な例として、本発明のsiRNA分子による遺伝子発現のエピジェネティックな制御は、遺伝子発現を変更させる、クロマチン構造またはメチル化パターンのsiRNA媒介性調節から生じ得る(例えば、Verdel et al., 2004, Science, 303, 672-676; Pal-Bhadra et al., 2004, Science, 303, 669-672; Allshire, 2002, Science, 297, 1818-1819; Volpe et al., 2002, Science, 297, 1833-1837; Jenuwein, 2002, Science, 297, 2215-2218; 及びHall et al., 2002, Science, 297, 2232-2237参照)。

【0234】

本明細書で提供されるいくつかの実施形態の化合物及び組成物は、dsRNA媒介性遺伝子サイレンシングまたはRNAi機序によって、AGTを標的にすることができると考えられ、例えば、自己相補的な配列を含む単一のRNA鎖が二本鎖構造を取ることができる「ヘアピン」もしくはステムループ二本鎖RNAエフェクター分子、または2つの異なるRNA鎖を含む二本鎖dsRNAエフェクター分子を含む。種々の実施形態において、dsRNAは、完全にリボヌクレオチドからなるか、リボヌクレオチドとデオキシヌクレオチドの混合物、例えば、2000年4月19日出願のWO00/63364または1999年4月21日出願の米国特許出願第60/130,377号に開示されているRNA/DNAハイブリッドなどからなる。dsRNAまたはdsRNAエフェクター分子は、その分子のあるセグメント中のヌクレオチドが、その分子の別のセグメント中のヌクレオチドと塩基対を形成するような自己相補性領域を含む単一分子であってよい。種々の実施形態において、単一分子からなるdsRNAは、完全にリボヌクレオチドからなるか、デオキシリボヌクレオチド領域に相補的なリボヌクレオチド領域を含む。あるいは、dsRNAは、互いに相補的な領域を有する2つの異なる鎖を含み得る。

【0235】

種々の実施形態において、両方の鎖が完全にリボヌクレオチドからなるか、一方の鎖が完全にリボヌクレオチドからなり、他方の鎖が完全にデオキシリボヌクレオチドからなるか、一方または両方の鎖がリボヌクレオチドとデオキシリボヌクレオチドの混合物を含有する。特定の実施形態において、相補性領域は、互いに、かつ標的核酸配列に対して、少なくとも70、80、90、95、98または100%相補的である。特定の実施形態において、二本鎖構造中に存在するdsRNAの領域は、少なくとも19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、50、75、100、200、500、1000、2000または5000個のヌクレオチドを含むか、dsRNA中に存在するcDNAまたは他の標的核酸配列中のヌクレオチドを全て含む。いくつかの実施形態において、dsRNAは、一本鎖末端などのいかなる一本鎖領域も含有しないか、dsRNAは、ヘアピンである。他の実施形態において、dsRNAは、1つ以上の一本鎖領域またはオーバーハングを有する。特定の実施形態において、RNA/DNAハイブリッドは、アンチセンス鎖または領域である（例えば、標的核酸に対して少なくとも70、80、90、95、98または100%の相補性を有する）DNA鎖または領域と、センス鎖または領域である（例えば、標的核酸に対して少なくとも70、80、90、95、98または100%の同一性を有する）RNA鎖または領域とを含み、逆もまた同様である。

10

【0236】

種々の実施形態において、RNA/DNAハイブリッドは、本明細書に記載されている方法、または2000年4月19日出願のWO00/63364もしくは1999年4月21日出願の米国特許出願第60/130,377号に記載されている方法などの酵素的合成法または化学的合成法を使用して、in vitroで作製される。他の実施形態において、in vitroで合成されたDNA鎖は、DNA鎖の細胞への形質転換の前、後、またはそれと同時に、in vivoまたはin vitroで作製されたRNA鎖と複合体化される。更に他の実施形態において、dsRNAは、センス領域及びアンチセンス領域を含有する単一環状核酸であるか、dsRNAは、環状核酸及び第2の環状核酸または線状核酸のいずれかを含む（例えば、2000年4月19日出願のWO00/63364または1999年4月21日出願の米国特許出願第60/130,377号参照）。例示的な環状核酸は、ヌクレオチドの遊離5'ホスホリル基が折り返すような形で別のヌクレオチドの2'ヒドロキシル基に結合されたラリアット構造を含む。

20

30

【0237】

他の実施形態において、dsRNAは、糖の2'位にハロゲン（フッ素基など）を含有するか、アルコキシ基（メトキシ基など）を含有する、1つ以上の修飾ヌクレオチドを含む。これは、対応する2'位が水素またはヒドロキシル基を含有する対応するdsRNAと比較してin vitroまたはin vivoにおけるdsRNAの半減期を増大させる。更に他の実施形態において、dsRNAは、隣接するヌクレオチド間に、1つ以上の天然に生じるホスホジエステル結合以外の結合を1つ以上含む。このような結合の例には、ホスホルアミド結合、ホスホロチオエート結合及びホスホロジチオエート結合が挙げられる。dsRNAはまた、米国特許第6,673,661号に教示されているような化学修飾核酸分子であってもよい。他の実施形態において、dsRNAは、例えば、2000年4月19日出願のWO00/63364または1999年4月21日出願の米国特許出願第60/130,377号によって開示されているように、1本または2本のキャップ鎖を含有する。

40

【0238】

他の実施形態において、dsRNAは、少なくとも部分的には、WO00/63364に開示されているdsRNA分子のいずれか、ならびに米国特許仮出願第60/399,998号及び米国特許仮出願第60/419,532号及びPCT/US2003/033466に記載されているdsRNA分子のいずれかであってもよい（これらの教示は、参照によって本明細書に援用される）。dsRNAはいずれも、本明細書に記載の方法またはWO00/63364に記載の方法などの標準的な方法を使用してin vitroま

50

たは *in vivo* で発現され得る。

【0239】

占有

特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、RNase Hによる切断もしくは標的核酸をもたらすこと、またはRISC経路による切断もしくは除去をもたらすことを想定していない。このような特定の実施形態において、アンチセンス活性は、ハイブリダイズしたアンチセンス化合物の存在が標的核酸の活性を遮断する占有から生じ得る。このような特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、一様に修飾されていてもよいし、修飾の組み合わせならびに／または修飾及び非修飾ヌクレオシドを含んでもよい。

【0240】

標的核酸、標的領域及びヌクレオチド配列

AGTをコードするヌクレオチド配列には、限定するものではないが、次のもの：GENBANKアクセッション番号NM_000029.3（配列番号1として本明細書に援用される）、GENBANKアクセッション番号NT_167186.1のヌクレオチド24354000～24370100の相補体（配列番号2として本明細書に援用される）、GENBANKアクセッション番号AK307978.1（配列番号3として本明細書に援用される）、GENBANKアクセッション番号AK303755.1（配列番号4として本明細書に援用される）、GENBANKアクセッション番号AK293507.1（配列番号5として本明細書に援用される）、及びGENBANKアクセッション番号CR606672.1（配列番号6として本明細書に援用される）が含まれる。特定の実施形態において、本明細書に記載されるアンチセンス化合物は、AGTをコードする核酸配列を標的にする。特定の実施形態において、本明細書に記載されるアンチセンス化合物は、配列番号1～6のうちのいずれかの配列を標的にする。

【0241】

本明細書に含まれる実施例において各配列番号で記載される配列は、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する何らかの修飾に依存しないことを理解されたい。したがって、配列番号によって定義されるアンチセンス化合物は、独立して、糖部分、ヌクレオシド間結合または核酸塩基に対する修飾を1つ以上含み得る。ISS番号（ISS No）によって記載されるアンチセンス化合物は、核酸塩基配列及びモチーフの組み合わせを示す。

【0242】

特定の実施形態において、標的領域は、構造的に画定された標的核酸の領域である。例えば、標的領域は、3' UTR、5' UTR、エクソン、イントロン、エクソン／イントロン境界、コード領域、翻訳開始領域、翻訳終止領域または他の画定された核酸領域を包含し得る。AGTについて構造的に画定された領域は、NCBIなどの配列データベースからアクセッション番号によって得ることができ、そのような情報は、参照により本明細書に援用される。特定の実施形態において、標的領域は、当該標的領域内のある標的セグメントの5' 標的部位から当該標的領域内の別の標的セグメントの3' 標的部位までの配列を包含し得る。特定の実施形態において、標的領域は、アンチセンス化合物内のアンチセンス化合物の5' 末端から少なくとも8個の連続した核酸塩基から選択される少なくとも8個の連続した核酸塩基を包含し得る（残りの核酸塩基は、標的核酸に特異的にハイブリダイズ可能なアンチセンス化合物の5' 末端の直ぐ上流から開始し、当該領域が約8～約80個の核酸塩基を含有するまで連続する、連続したストレッチである）。特定の実施形態において、標的領域は、アンチセンス化合物内のアンチセンス化合物の3' 末端から少なくとも8個の連続した核酸塩基から選択される少なくとも8個の連続した核酸塩基を包含し得る（残りの核酸塩基は、標的核酸に特異的にハイブリダイズ可能なアンチセンス化合物の3' 末端の直ぐ下流から開始し、当該領域が約8～約80個の核酸塩基を含有するまで連続する、連続したストレッチである）。特定の実施形態において、標的領域は、配列番号14～2051のうちのいずれかから選択される少なくとも8個の連続した核酸塩基を含み、5' または3' の8個の連続する核酸塩基配列まで最大80個の核酸塩基が

続く。

【0243】

特定の実施形態において、「標的セグメント」は、核酸内の標的領域のより小さな下位部分として定義される。例えば、標的セグメントは、標的核酸のうち、1つ以上のアンチセンス化合物が標的とするヌクレオチドの配列であり得る。「5'標的部位」とは、標的セグメントの最も5'側のヌクレオチドを指す。「3'標的部位」とは、標的セグメントの最も3'側のヌクレオチドを指す。

【0244】

標的化には、アンチセンス化合物がハイブリダイズして所望の作用が生じるような少なくとも1つの標的セグメントを決定することが含まれる。特定の実施形態において、所望の作用は、mRNA標的核酸レベルの減少である。特定の実施形態において、所望の作用は、標的核酸によってコードされているタンパク質のレベルの減少または標的核酸に関連した表現型変化である。

【0245】

標的領域は、1つ以上の標的セグメントを含有し得る。標的領域内の複数の標的セグメントは、重複していてもよい。あるいは、それらは重複していなくてもよい。特定の実施形態において、標的領域内の標的セグメントは、約300個以下のヌクレオチドによって隔てられている。特定の実施形態において、標的領域内の標的セグメントは、多数のヌクレオチドで隔てられており、標的核酸上、250、200、150、100、90、80、70、60、50、40、30、20もしくは10個のヌクレオチド、およそその数のヌクレオチド、それ以下の数のヌクレオチド、およそその数以下のヌクレオチド、または前述の値のうちのいずれか2つによって定義される範囲の数のヌクレオチドで隔てられている。特定の実施形態において、標的領域内の標的セグメントは、標的核酸上、5個以下または約5個以下のヌクレオチドで隔てられている。特定の実施形態において、標的セグメントは、連続している。本明細書で列举される5'標的部位または3'標的部位のうちのいずれかである開始核酸を有する範囲によって定義される標的領域が企図される。

【0246】

好適な標的セグメントは、5'UTR、コード領域、3'UTR、イントロン、エクソンまたはエクソン／イントロン境界内に存在し得る。開始コドンまたは終止コドンを含む標的セグメントもまた好適な標的セグメントである。好適な標的セグメントは、開始コドンまたは終止コドンなどの特定の構造的に画定された領域を特に除外してもよい。

【0247】

好適な標的セグメントの決定には、標的核酸の配列とゲノム全体の他の配列との比較が含まれ得る。例えば、BLASTアルゴリズムを使用して、異なる核酸間で類似性を有する領域を同定することができる。この比較により、選択した標的核酸以外の配列（すなわち、非ターゲット配列またはオフターゲット配列）に非特異的にハイブリダイズし得るアンチセンス化合物配列の選択を避けることができる。

【0248】

活性標的領域内でのアンチセンス化合物の活性（例えば、標的核酸レベルの減少率によって定義されるもの）には、ばらつきが生じ得る。特定の実施形態において、AGT mRNAレベルの減少は、AGT発現の阻害を示す。AGTタンパク質のレベルの減少もまた、AGT発現の阻害を示す。更に、表現型変化もAGT発現を示す。例えば、組織における線維症の低減は、AGT発現の阻害を示し得る。別の例として、高血圧の軽減は、AGT発現の阻害を示し得る。

【0249】

ハイブリダイゼーション

いくつかの実施形態において、本明細書で開示されるアンチセンス化合物とAGT核酸との間でハイブリダイゼーションが生じる。最も一般的なハイブリダイゼーションの機序には、核酸分子の相補的な核酸塩基間での水素結合（例えば、ワトソン・クリック型、フーグスティーン型または逆フーグスティーン型の水素結合）が関与する。

【0250】

ハイブリダイゼーションは、様々な条件下で生じ得る。ストリンジェントな条件は、配列依存的であり、ハイブリダイズされる核酸分子の性質及び組成によって決まる。

【0251】

ある配列が標的核酸に特異的にハイブリダイズするかどうかについて決定する方法は、当該技術分野においてよく知られている (Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed., 2001)。特定の実施形態において、本明細書で提供されるアンチセンス化合物は、AGT核酸と特異的にハイブリダイズ可能である。

【0252】

相補性

アンチセンス化合物及び標的核酸は、そのアンチセンス化合物の十分な数の核酸塩基が、所望の作用（例えば、AGT核酸などの標的核酸のアンチセンス阻害）を生じるように、その標的核酸の対応する核酸塩基と水素結合することができるとき、互いに相補的である。

【0253】

アンチセンス化合物とAGT核酸との間の非相補的核酸塩基は、そのアンチセンス化合物が依然としてAGT核酸に特異的にハイブリダイズすることができるのであれば、許容され得る。更に、アンチセンス化合物は、介在するまたは隣接するセグメントがハイブリダイゼーション事象に関与しないような形で、AGT核酸の1つ以上のセグメントにわたってハイブリダイズしてもよい（例えば、ループ構造、ミスマッチまたはヘアピン構造）。

【0254】

特定の実施形態において、本明細書で提供されるアンチセンス化合物またはその指定された部分は、AGT核酸、標的領域、標的セグメントまたはその指定された部分に対して、70%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%相補的であるか、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%相補的である。アンチセンス化合物と標的核酸との相補性パーセントは、常法を使用して決定することができる。例えば、アンチセンス化合物の核酸塩基20個中18個が標的領域に対して相補的であり、そのため、特異的にハイブリダイズするアンチセンス化合物は、90%の相補性になると言える。この例の場合、残りの非相補的核酸塩基は、ひとまとまりになっていてもよいし、相補的核酸塩基の間に散在していてもよく、また、互いに連続している必要も、相補的核酸塩基に対して連続している必要もない。したがって、標的核酸と完全に相補的な2つの領域に挟まれた4つの非相補的核酸塩基を有する18核酸塩基長のアンチセンス化合物は、当該標的核酸と77.8%の総相補性を有し、したがって、本発明の範囲内に包含される。

【0255】

アンチセンス化合物と標的核酸のある領域との相補性パーセントは、当該技術分野において知られているBLASTプログラム（ベーシックローカルアライメント検索ツール）及びPowerBLASTプログラム（Altschul et al., J. Mol. Biol., 1990, 215, 403-410; Zhang and Madden, Genome Res., 1997, 7, 649-656）を使用して常法により決定することができる。相同性、配列同一性または相補性パーセントは、例えば、Smith及びWatermanのアルゴリズム（Adv. Appl. Math., 1981, 2, 482-489）を使用するギャッププログラム（Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Gen

10

20

30

40

50

etics Computer Group, University Research Park, Madison Wis.) によって、デフォルト設定を使用して決定することができる。

【0256】

特定の実施形態において、本明細書で提供されるアンチセンス化合物またはその指定された部分は、標的核酸またはその指定された部分に対して、完全に相補的（すなわち、100%相補性）である。例えば、アンチセンス化合物は、A G T 核酸またはその標的領域もしくは標的セグメントもしくは標的配列に完全に相補的であり得る。本明細書で使用されるとき、「完全に相補的」とは、アンチセンス化合物の各核酸塩基が、標的核酸の対応する核酸塩基と正確な塩基対を形成できることを意味する。例えば、20個の核酸塩基のアンチセンス化合物は、対応する標的核酸の20個の核酸塩基部分とそのアンチセンス化合物に対して完全に相補的である限り、400核酸塩基長である標的配列に完全に相補的である。完全に相補的とは、第1及び／または第2の核酸の指定された部分に関しても使用され得る。例えば、30個の核酸塩基のアンチセンス化合物の20個の核酸塩基部分は、400核酸塩基長である標的配列に「完全に相補的」であり得る。30個の核酸塩基のオリゴヌクレオチドのうちの20個の核酸塩基部分は、標的配列が、対応する20個の核酸塩基部分を有し、その各核酸塩基が、アンチセンス化合物の20個の核酸塩基部分に対して相補的であれば、その標的配列に完全に相補的である。同時に、当該30個の核酸塩基のアンチセンス化合物全体は、そのアンチセンス化合物の残りの10個の核酸塩基も同様に標的配列に対して相補的であるかどうかに応じて、標的配列に完全に相補的である場合もあれば、そうでない場合もある。

10

20

【0257】

非相補的核酸塩基の場所は、アンチセンス化合物の5'末端でも3'末端でもよい。あるいは、1つまたは複数の非相補的核酸塩基は、アンチセンス化合物の内側の位置に存在し得る。2つ以上の非相補的核酸塩基が存在する場合、それらは、連続していてもよいし（すなわち、結合している）、非連続でもよい。一実施形態において、非相補的核酸塩基は、ギャップマーアンチセンスオリゴヌクレオチドのウイングセグメントに位置する。

【0258】

特定の実施形態において、12、13、14、15、16、17、18、19もしくは20個の長さの核酸塩基または最大11、12、13、14、15、16、17、18、19もしくは20個の長さの核酸塩基であるアンチセンス化合物は、A G T 核酸などの標的核酸またはその指定された部分に対して、4個以下、3個以下、2個以下または1個以下の非相補的核酸塩基（複数可）を含む。

30

【0259】

特定の実施形態において、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29もしくは30個の長さの核酸塩基または最大11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29もしくは30個の長さの核酸塩基であるアンチセンス化合物は、A G T 核酸などの標的核酸またはその指定された部分に対して、6個以下、5個以下、4個以下、3個以下、2個以下または1個以下の非相補的核酸塩基（複数可）を含む。

40

【0260】

本明細書で提供されるアンチセンス化合物には、標的核酸の一部に相補的であるものも含まれる。本明細書で使用されるとき、「部分（portion）」は、標的核酸のある領域またはセグメント内の所定数の連続した（すなわち、結合された）核酸塩基を指す。「部分」はまた、アンチセンス化合物の所定数の連続した核酸塩基を指し得る。特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、標的セグメントの少なくとも8核酸塩基部分に相補的である。特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、標的セグメントの少なくとも12核酸塩基部分に相補的である。特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、標的セグメントの少なくとも15核酸塩基部分に相補的である。また、標的セグメ

50

ントの少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19、少なくとも 20 もしくはそれ以上の核酸塩基部分またはこれらの値のうちのいずれか 2 つによって定義される範囲の核酸塩基部分に相補的であるアンチセンス化合物も企図される。

【0261】

同一性

本明細書で提供されるアンチセンス化合物はまた、ある特定のヌクレオチド配列、配列番号もしくは特定の I S I S 番号によって表される化合物またはその部分に対して、所定の同一性パーセントを有し得る。本明細書で使用されるとき、アンチセンス化合物は、それが同じ核酸塩基対を形成する能力を有するのであれば、本明細書で開示される配列と同一である。例えば、開示される DNA 配列中でチミジンの代わりにウラシルを含有する RNA は、ウラシルとチミジンがどちらもアデニンと対合するので、その DNA 配列と同一であるとみなされる。本明細書に記載されるアンチセンス化合物の短縮型及び延長型、ならびに本明細書で提供されるアンチセンス化合物に対して非同一塩基を有する化合物も企図される。非同一塩基は、互いに隣接していてもよいし、アンチセンス化合物全体に分散していてもよい。アンチセンス化合物の同一性パーセントは、比較対象の配列に対して同一の塩基対形成を有する塩基の数に応じて、算出される。

【0262】

特定の実施形態において、アンチセンス化合物またはその部分は、本明細書で開示されるアンチセンス化合物もしくは配列番号またはその部分の 1 つ以上と、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % または 100 % 同一である。

【0263】

修飾

ヌクレオシドは、塩基-糖の組み合わせである。ヌクレオシドの核酸塩基（塩基としても知られる）部分は、通常、複素環式塩基部分である。ヌクレオチドは、ヌクレオシドの糖部分に共有結合したリン酸基を更に含むヌクレオシドである。ペントフラノシル糖を含むヌクレオシドの場合、リン酸基は、糖の 2'、3' または 5' ヒドロキシル部分に結合され得る。オリゴヌクレオチドは、隣接するヌクレオシドと互いに共有結合されることによって形成され、線状高分子オリゴヌクレオチドを形成する。リン酸基は、オリゴヌクレオチド構造内で、オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間結合を形成するものと一般に言われている。

【0264】

アンチセンス化合物に対する修飾は、ヌクレオシド間結合、糖部分または核酸塩基に対する置換または変更を包含する。修飾アンチセンス化合物は、例えば、細胞取込みの向上、核酸標的に対する親和性の向上、ヌクレアーゼ存在下での安定性の増大、または阻害活性の増加などの望ましい特性があるため、天然型よりも好ましいことが多い。

【0265】

短縮型または切断型アンチセンスオリゴヌクレオチドのその標的核酸に対する結合親和性を増大させるには、化学修飾ヌクレオシドを利用することもできる。したがって、より短いアンチセンス化合物でも、このような化学修飾ヌクレオシドを有するものは、多くの場合、同等の結果を得ることができる。

【0266】

修飾ヌクレオシド間結合

RNA 及び DNA の天然に生じるヌクレオシド間結合は、3' - 5' ホスホジエステル結合である。天然に生じるヌクレオシド間結合を有するアンチセンス化合物よりも、1 つ以上の修飾ヌクレオシド間結合、すなわち、天然に生じないヌクレオシド間結合を有するアンチセンス化合物のほうが、例えば、細胞取込みの向上、核酸標的に対する親和性の向

上及びヌクレアーゼ存在下での安定性の増大などの望ましい特性を有するため、選択されることが多い。

【0267】

修飾ヌクレオシド間結合を有するオリゴヌクレオチドには、リン原子を保持するヌクレオシド間結合及びリン原子を持たないヌクレオシド間結合が含まれる。代表的なリン含有ヌクレオシド間結合には、ホスホジエステル、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、ホスホロアミデート及びホスホロチオエートが挙げられるが、これらに限定されない。リン含有結合及びリン非含有結合の調製方法は、よく知られている。

【0268】

特定の実施形態において、A G T 核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物は、1つ以上の修飾ヌクレオシド間結合を含む。特定の実施形態において、修飾ヌクレオシド間結合の少なくとも1つは、ホスホロチオエート結合である。特定の実施形態において、アンチセンス化合物の各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。

【0269】

修飾糖部分

本発明のアンチセンス化合物は、場合により、糖基が修飾されている1つ以上のヌクレオシドを含有することができる。このような糖修飾ヌクレオシドは、ヌクレアーゼ安定性の向上、結合親和性の増大または他の何らかの有益な生物学的特性をアンチセンス化合物に付与し得る。特定の実施形態において、ヌクレオシドは、化学修飾リボフラノース環部分を含む。化学修飾リボフラノース環の例には、限定するものではないが、置換基の付加（例えば、5'及び2'置換基、非ジェミナル環原子の架橋による二環式核酸（BNA）の形成、リボシル環酸素原子のS、N（R）またはC（R₁）（R₂）（R、R₁及びR₂は、それぞれ独立してH、C₁〜C₁₂アルキルまたは保護基である）による置き換え及びこれらの組み合わせが挙げられる。化学修飾糖の例には、2'-F-5'-メチル置換ヌクレオシド（開示されている他の5'、2'-ビス置換ヌクレオシドについては2008年8月21日に公開されたPCT国際出願WO2008/101157を参照）またはリボシル環酸素原子のSの置き換えと2'位の更なる置換（2005年6月16日に公開された米国特許出願公開US2005-0130923参照）、あるいは、BNAの5'-置換（2007年11月22日に公開されたPCT国際出願WO2007/134181を参照；例えば、5'-メチルまたは5'-ビニル基で置換されたLNA）が挙げられる。

【0270】

修飾糖部分を有するヌクレオシドの例には、5'-ビニル、5'-メチル（RまたはS）、4'-S、2'-F、2'-OCH₃、2'-OCH₂CH₃、2'-OCH₂CH₂F及び2'-O（CH₂）₂OCH₃置換基を含むヌクレオシドが挙げられる。2'位の置換基は、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C₁〜C₁₀アルキル、OCF₃、OCH₂F、O（CH₂）₂SCH₃、O（CH₂）₂-O-N（R_m）（R_n）、O-CH₂-C（=O）-N（R_m）（R_n）及びO-CH₂-C（=O）-N（R₁）-（CH₂）₂-N（R_m）（R_n）（式中、各R₁、R_m及びR_nは、独立してHまたは置換または無置換C₁〜C₁₀アルキルである）から選択することもできる。

【0271】

本明細書で使用されるとき、「二環式ヌクレオシド」は、二環式糖部分を含む修飾ヌクレオシドを指す。二環式核酸（BNA）の例には、限定するものではないが、4'リボシル環原子と2'リボシル環原子との間に架橋を含むヌクレオシドが挙げられる。特定の実施形態において、本明細書で提供されるアンチセンス化合物には、1つ以上のBNAヌクレオシドを含み、その架橋は、次式：4'-（CH₂）-O-2'（LNA）；4'-（CH₂）-S-2'；4'-（CH₂）₂-O-2'（ENA）；4'-CH（CH₃）-O-2'（cet）及び4'-CH（CH₂OCH₃）-O-2'（及びその類似体；2008年7月15日に発行された米国特許第7,399,845号参照）；4'-C（

CH₃) (CH₃) - O - 2' (及びその類似体; WO/2009/006478 (2009年1月8日公開)として公開されたPCT/US2008/068922参照); 4' - CH₂ - N (OCH₃) - 2' (及びその類似体; WO/2008/150729 (2008年12月11日公開)として公開されたPCT/US2008/064591参照); 4' - CH₂ - O - N (CH₃) - 2' (2004年9月2日に公開された米国特許出願公開US2004-0171570参照); 4' - CH₂ - N (R) - O - 2' (式中、Rは、H、C₁ ~ C₁₂アルキル保護基である) (2008年9月23日発行の米国特許第7,427,672号参照); 4' - CH₂ - C (H) (CH₃) - 2' (例えば、Zhou, et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134参照)ならびに4' - CH₂ - C (=CH₂) - 2' (及びその類似体: WO2008/154401 (2008年12月8日公開)として公開されたPCT/US2008/066154参照)のうちの1つを含む。

10

【0272】

更なる二環式ヌクレオシドは、公開文献に報告されている(例えば、Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129 (26) 8362-8379; Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372; Elayadi et al., Curr. Opinion Inven. Drugs, 2001, 2, 558-561; Braasch et al., Chem. Biol., 2001, 8, 1-7; Orum et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243; Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638; Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630; Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222; Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039; 米国特許第7,399,845号、同第7,053,207号、同第7,034,133号、同第6,794,499号、同第6,770,748号、同第6,670,461号、同第6,525,191号、同第6,268,490号; 米国特許出願公開第US2008-0039618号、同第US2007-0287831号、同第US2004-0171570号; 米国特許出願第12/129,154号、同第61/099,844号、同第61/097,787号、同第61/086,231号、同第61/056,564号、同第61/026,998号、同第61/026,995号、同第60/989,574号; 国際出願第WO2007/134181号、同第WO2005/021570号、同第WO2004/106356号、同第WO99/14226号; ならびにPCT国際出願番号: PCT/US2008/068922、PCT/US2008/066154及びPCT/US2008/064591参照)。前述の二環式ヌクレオシドのそれぞれは、例えばα-L-リボフラノース及びβ-D-リボフラノースを含む、1つ以上の立体化学的糖構造を有するように調製することができる(WO99/14226 (1999年3月25日公開)として公開されたPCT国際出願PCT/DK98/00393号参照)。

20

30

40

【0273】

本明細書で使用されるとき、「単環式ヌクレオシド」は、二環式糖部分でない修飾糖部分を含むヌクレオシドを指す。特定の実施形態において、ヌクレオシドの糖部分または糖部分類似体は、任意の位置で修飾または置換され得る。

【0274】

本明細書で使用されるとき、「4'-2'二環式ヌクレオシド」または「4'→2'二環式ヌクレオシド」は、糖環の2'炭素原子と4'炭素原子とを接続するフラノース環の2つの炭素原子を接続する架橋を含むフラノース環を含む二環式ヌクレオシドを指す。

【0275】

50

特定の実施形態において、BNAヌクレオシドの二環式糖部分には、限定するものではないが、ペントフラノシル糖部分の4'炭素原子と2'炭素原子との間に少なくとも1つの架橋を有する化合物が含まれ、限定するものではないが、 $-[C(R_a)(R_b)]_n-$ 、 $-C(R_a)=C(R_b)-$ 、 $-C(R_a)=N-$ 、 $-C(=NR_a)-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-O-$ 、 $-Si(R_a)_2-$ 、 $-S(=O)_x-$ 及び $-N(R_a)-$ から独立して選択される1個または1~4個の結合基を含む架橋を含み、式中、 x は0、1または2であり、 n は1、2、3または4であり、各 R_a 及び R_b は、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、置換 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル、置換 $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル、置換 $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル、 $C_5 \sim C_{20}$ アリール、置換 $C_5 \sim C_{20}$ アリール、複素環基、置換複素環基、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、 $C_5 \sim C_7$ 脂環式基、置換 $C_5 \sim C_7$ 脂環式基、ハロゲン、 OJ_1 、 NJ_1J_2 、 SJ_1 、 N_3 、 $COOJ_1$ 、アシル($C(=O)-H$)、置換アシル、 CN 、スルホニル($S(=O)_2-J_1$)、またはスルホキシル($S(=O)-J_1$)であり、各 J_1 及び J_2 は、独立して、H、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、置換 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル、置換 $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル、置換 $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル、 $C_5 \sim C_{20}$ アリール、置換 $C_5 \sim C_{20}$ アリール、アシル($C(=O)-H$)、置換アシル、複素環基、置換複素環基、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、置換 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキルまたは保護基である。

10

【0276】

20

特定の実施形態において、二環式糖部分の架橋は、 $-[C(R_a)(R_b)]_n-$ 、 $-[C(R_a)(R_b)]_n-O-$ 、 $-C(R_aR_b)-N(R)-O-$ または $-C(R_aR_b)-O-N(R)-$ である。特定の実施形態において、架橋は、4'- CH_2-2' 、4'- $(CH_2)_2-2'$ 、4'- $(CH_2)_3-2'$ 、4'- CH_2-O-2' 、4'- $(CH_2)_2-O-2'$ 、4'- $CH_2-O-N(R)-2'$ 及び4'- $CH_2-N(R)-O-2'$ （式中、 R は、独立して、H、保護基または $C_1 \sim C_{12}$ アルキルである）である。

【0277】

特定の実施形態において、二環式ヌクレオシドは、異性体配置によって更に定義される。例えば、4'- $(CH_2)-O-2'$ 架橋を含むヌクレオシドは、 $\alpha-L$ 配置または $\beta-D$ 配置を取り得る。これまでに、 $\alpha-L$ -メチレンオキシ(4'- CH_2-O-2')BNAがアンチセンスオリゴヌクレオチドに組み込まれており、アンチセンス活性を示している(Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372)。

30

【0278】

特定の実施形態において、二環式ヌクレオシドには、4'→2'架橋を有するものが含まれ、かかる架橋には、限定するものではないが、 $\alpha-L-4'-(CH_2)-O-2'$ 、 $\beta-D-4'-CH_2-O-2'$ 、4'- $(CH_2)_2-O-2'$ 、4'- $CH_2-O-N(R)-2'$ 、4'- $CH_2-N(R)-O-2'$ 、4'- $CH(CH_3)-O-2'$ 、4'- CH_2-S-2' 、4'- $CH_2-N(R)-2'$ 、4'- $CH_2-CH(CH_3)-2'$ 、及び4'- $(CH_2)_3-2'$ （式中、 R は、H、保護基または $C_1 \sim C_{12}$ アルキルである）が含まれる。

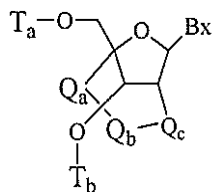
40

【0279】

特定の実施形態において、二環式ヌクレオシドは、次式を有する。

【0280】

【化 9】



【0281】

式中、

B x は、複素環式塩基部分であり、

—Q_a—Q_b—Q_c—は、—CH₂—N(R_c)—CH₂—、—C(=O)—N(R_c)—CH₂—、—CH₂—O—N(R_c)—、—CH₂—N(R_c)—O—または—N(R_c)—O—CH₂—であり、

R_c は、C₁～C₁₂ アルキルまたはアミノ保護基であり、

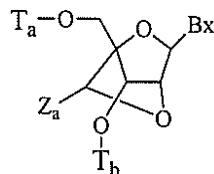
T_a 及び T_b は、それぞれ独立して、H、ヒドロキシル保護基、コンジュゲート基、反応性リン基、リン部分または支持体への共有結合である。

【0282】

特定の実施形態において、二環式ヌクレオシドは、次式を有する。

【0283】

【化 10】



【0284】

式中、

B x は、複素環式塩基部分であり、

T_a 及び T_b は、それぞれ独立して、H、ヒドロキシル保護基、コンジュゲート基、反応性リン基、リン部分または支持体への共有結合であり、

Z_a は、C₁～C₆ アルキル、C₂～C₆ アルケニル、C₂～C₆ アルキニル、置換 C₁～C₆ アルキル、置換 C₂～C₆ アルケニル、置換 C₂～C₆ アルキニル、アシル、置換アシル、置換アミド、チオールまたは置換チオールである。

【0285】

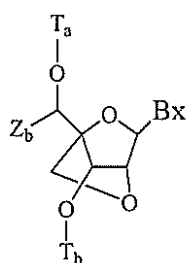
一実施形態において、置換基のそれぞれは、独立して、ハロゲン、オキソ、ヒドロキシル、OJ_c、NJ_cJ_d、SJ_c、N₃、OC(=X)J_c 及び NJ_eC(=X)NJ_cJ_d から独立して選択される置換基でモノ置換またはポリ置換され、式中、各 J_c、J_d 及び J_e は、独立して、H、C₁～C₆ アルキルまたは置換 C₁～C₆ アルキルであり、X は、O または NJ_c である。

【0286】

特定の実施形態において、二環式ヌクレオシドは、次式を有する。

【0287】

【化 11】



【0288】

式中、

B_xは、複素環式塩基部分であり、

T_a及びT_bは、それぞれ独立して、H、ヒドロキシル保護基、コンジュゲート基、反応性リン基、リン部分または支持体への共有結合であり、

Z_bは、C₁～C₆アルキル、C₂～C₆アルケニル、C₂～C₆アルキニル、置換C₁～C₆アルキル、置換C₂～C₆アルケニル、置換C₂～C₆アルキニルまたは置換アシル(C(=O)－)である。

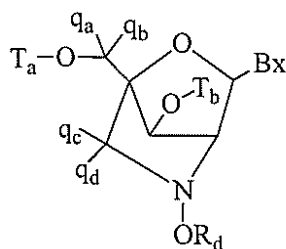
【0289】

特定の実施形態において、二環式ヌクレオシドは、次式を有する。

10

【0290】

【化12】



【0291】

20

式中、

B_xは、複素環式塩基部分であり、

T_a及びT_bは、それぞれ独立して、H、ヒドロキシル保護基、コンジュゲート基、反応性リン基、リン部分または支持体への共有結合であり、

R_dは、C₁～C₆アルキル、置換C₁～C₆アルキル、C₂～C₆アルケニル、置換C₂～C₆アルケニル、C₂～C₆アルキニルまたは置換C₂～C₆アルキニルであり、

各q_a、q_b、q_c及びq_dは、独立して、H、ハロゲン、C₁～C₆アルキル、置換C₁～C₆アルキル、C₂～C₆アルケニル、置換C₂～C₆アルケニル、C₂～C₆アルキニルまたは置換C₂～C₆アルキニル、C₁～C₆アルコキシ、置換C₁～C₆アルコキシ、アシル、置換アシル、C₁～C₆アミノアルキルまたは置換C₁～C₆アミノアルキルである。

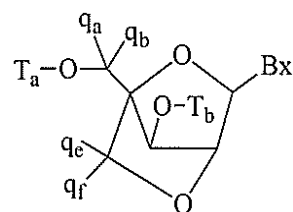
30

【0292】

特定の実施形態において、二環式ヌクレオシドは、次式を有する。

【0293】

【化13】



40

【0294】

式中、

B_xは、複素環式塩基部分であり、

T_a及びT_bは、それぞれ独立して、H、ヒドロキシル保護基、コンジュゲート基、反応性リン基、リン部分または支持体への共有結合であり、

q_a、q_b、q_c及びq_dは、それぞれ独立して、水素、ハロゲン、C₁～C₁₂アルキル、置換C₁～C₁₂アルキル、C₂～C₁₂アルケニル、置換C₂～C₁₂アルケニル、C₂～C₁₂アルキニル、置換C₂～C₁₂アルキニル、C₁～C₁₂アルコキシ、置換C₁～C₁₂アルコキシ、OJ_j、SJ_j、SOJ_j、SO₂J_j、NJ_jJ_k、N₃

50

、 CN 、 $C(=O)OJ_j$ 、 $C(=O)NJ_jJ_k$ 、 $C(=O)J_j$ 、 $O-C(=O)NJ_jJ_k$ 、 $N(H)C(=NH)NJ_jJ_k$ 、 $N(H)C(=O)NJ_jJ_k$ または $N(H)C(=S)NJ_jJ_k$ であり、

あるいは q_e 及び q_f は、一緒になって $=C(q_g)(q_h)$ であり、

q_g 及び q_h は、それぞれ独立して、 H 、ハロゲン、 $C_{1\sim C_{12}}$ アルキルまたは置換 $C_{1\sim C_{12}}$ アルキルである。

【0295】

4'- CH_2-O-2' 架橋を有する、アデニン、シトシン、グアニン、5-メチルシトシン、チミン及びウラシル二環式ヌクレオシドの合成及び調製については、そのオリゴマー化及び核酸認識特性とともに記載されている (Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630)。二環式ヌクレオシドの合成は、WO98/39352 及び WO99/14226 にも記載されている。

10

【0296】

4'- CH_2-O-2' 及び 4'- CH_2-S-2' などの 4'→2' 架橋基を有する種々の二環式ヌクレオシドの類似体も調製されている (Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222)。核酸ポリメラーゼの基質として使用する二環式ヌクレオシドを含むオリゴデオキシリボヌクレオチド二本鎖の調製についても記載されている (Wengel et al., WO99/14226)。更に、立体配置が制限された新しい高親和性オリゴヌクレオチド類似体である 2'-アミノ-BNA の合成についても当該技術分野において記載されている (Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039)。加えて、2'-アミノ-BNA 及び 2'-メチルアミノ-BNA が調製されており、相補的 RNA 鎖と DNA 鎖によるその二本鎖の熱安定性については先に報告されている。

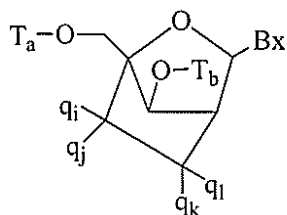
20

【0297】

特定の実施形態において、二環式ヌクレオシドは、次式を有する。

【0298】

【化14】



30

【0299】

式中、

B_x は、複素環式塩基部分であり、

T_a 及び T_b は、それぞれ独立して、 H 、ヒドロキシル保護基、コンジュゲート基、反応性リン基、リン部分または支持体への共有結合であり、

各 q_i 、 q_j 、 q_k 及び q_l は、独立して、 H 、ハロゲン、 $C_{1\sim C_{12}}$ アルキル、置換 $C_{1\sim C_{12}}$ アルキル、 $C_{2\sim C_{12}}$ アルケニル、置換 $C_{2\sim C_{12}}$ アルケニル、 $C_{2\sim C_{12}}$ アルキニル、置換 $C_{2\sim C_{12}}$ アルキニル、 $C_{1\sim C_{12}}$ アルコキシル、置換 $C_{1\sim C_{12}}$ アルコキシル、 OJ_j 、 SJ_j 、 SOJ_j 、 SO_2J_j 、 NJ_jJ_k 、 N_3 、 CN 、 $C(=O)OJ_j$ 、 $C(=O)NJ_jJ_k$ 、 $C(=O)J_j$ 、 $O-C(=O)NJ_jJ_k$ 、 $N(H)C(=NH)NJ_jJ_k$ 、 $N(H)C(=O)NJ_jJ_k$ または $N(H)C(=S)NJ_jJ_k$ であり、

40

q_i 及び q_j または q_l 及び q_k は、一緒になって、 $=C(q_g)(q_h)$ であり、式中、 q_g 及び q_h は、それぞれ独立して、 H 、ハロゲン、 $C_{1\sim C_{12}}$ アルキルまたは置換 $C_{1\sim C_{12}}$ アルキルである。

【0300】

50

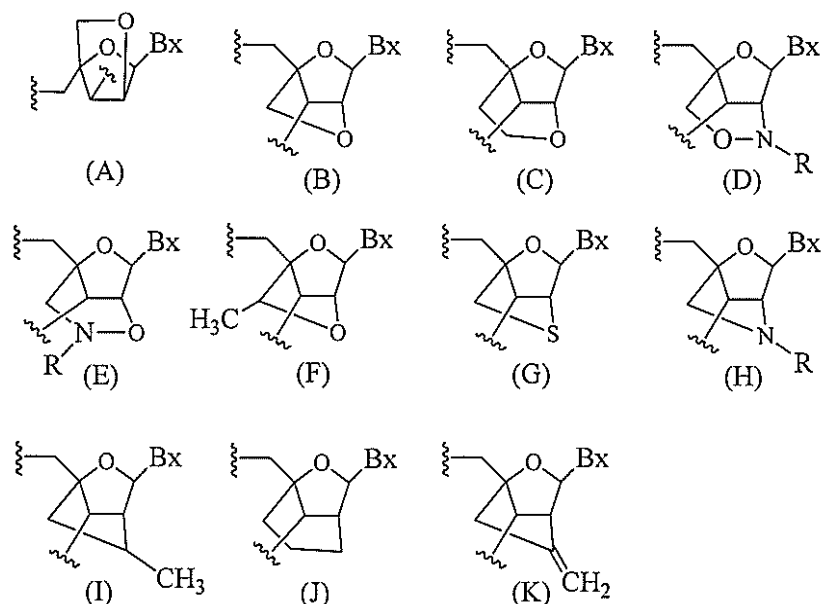
4'-(CH₂)₃-2' 架橋及びアルケニル類似体架橋 4'-CH=CH-CH₂-2' を有する、ある炭素環二環式ヌクレオシドが記載されている (Frier et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25 (22), 4429-4443 及び Albaek et al., J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740)。炭素環二環式ヌクレオシドの合成及び調製についても、そのオリゴマー化及び生化学的研究とともに記載されている (Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc. 2007, 129 (26), 8362-8379)。

【0301】

特定の実施形態において、二環式ヌクレオシドには、以下に示すように、(A) α-L-メチレンオキシ (4'-CH₂-O-2') BNA、(B) β-D-メチレンオキシ (4'-CH₂-O-2') BNA、(C) エチレンオキシ (4'-(CH₂)₂-O-2') BNA、(D) アミノオキシ (4'-CH₂-O-N(R)-2') BNA、(E) オキシアミノ (4'-CH₂-N(R)-O-2') BNA、(F) メチル (メチレンオキシ) (4'-CH(CH₃)-O-2') BNA (拘束エチルまたは cEt と呼ばれる)、(G) メチレン-チオ (4'-CH₂-S-2') BNA、(H) メチレン-アミノ (4'-CH₂-N(R)-2') BNA、(I) メチル炭素環式 (4'-CH₂-CH(CH₃)-2') BNA、(J) プロピレン炭素環式 (4'-(CH₂)₃-2') BNA、及び (K) ビニル BNA が含まれるが、これらに限定されない。

【0302】

【化15】



【0303】

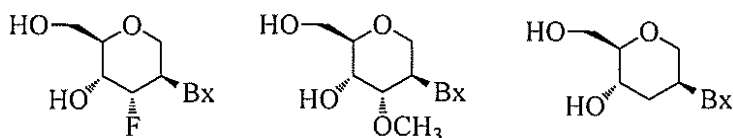
式中、Bx は、塩基部分であり、R は、独立して、H、保護基、C₁~C₆ アルキルまたは C₁~C₆ アルコキシである。

【0304】

本明細書で使用されるとき、「修飾テトラヒドロピランヌクレオシド」または「修飾 THPヌクレオシド」という用語は、通常のヌクレオシド中のペントフラノシル残基の代わりに6員テトラヒドロピラン「糖」を有するヌクレオシドを意味し、糖代替物と呼ぶ場合もある。修飾 THPヌクレオシドには、当該技術分野においてヘキシトール核酸 (HNA)、アニトール核酸 (ANA)、マニトール核酸 (MNA) と呼ばれるもの (Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-854 参照)、または以下に示すテトラヒドロピラン環系を有するフルオロ HNA (F-HNA) が含まれるが、これらに限定されない。

【0305】

【化 1 6】

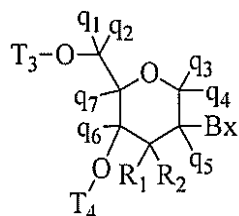


【0 3 0 6】

特定の実施形態において、糖代替物は、次式を有するものから選択される。

【0 3 0 7】

【化 1 7】



10

【0 3 0 8】

式中、

Bxは、複素環式塩基部分であり、

T₃及びT₄は、それぞれ独立して、テトラヒドロピランヌクレオシド類似体をオリゴマー化合物に結合するヌクレオシド間結合基であり、あるいは、T₃及びT₄の一方は、テトラヒドロピランヌクレオシド類似体をオリゴマー化合物またはオリゴヌクレオチドに結合するヌクレオシド間結合基であり、T₃及びT₄の他方は、H、ヒドロキシル保護基、結合されたコンジュゲート基または5'もしくは3'末端基であり、

q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆及びq₇は、それぞれ独立して、H、C₁～C₆アルキル、置換C₁～C₆アルキル、C₂～C₆アルケニル、置換C₂～C₆アルケニル、C₂～C₆アルキニルまたは置換C₂～C₆アルキニルであり、

R₁及びR₂の一方は、水素であり、他方は、ハロゲン、置換または無置換アルコキシ、NJ₁J₂、SJ₁、N₃、OC(=X)J₁、OC(=X)NJ₁J₂、NJ₃C(=X)NJ₁J₂及びCNから選択され、式中、Xは、O、SまたはNJ₁であり、各J₁、J₂及びJ₃は、独立して、HまたはC₁～C₆アルキルである。

20

30

【0 3 0 9】

特定の実施形態において、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆及びq₇は、それぞれHである。特定の実施形態において、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆及びq₇のうちの少なくとも1つは、H以外である。特定の実施形態において、q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆及びq₇のうちの少なくとも1つは、メチルである。特定の実施形態において、R₁及びR₂の一方がFであるTHPヌクレオシドが提供される。特定の実施形態において、R₁はフルオロであり、R₂はHであり、R₁はメトキシであり、R₂はHであり、R₁はメトキシエトキシであり、R₂はHである。

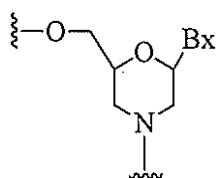
【0 3 1 0】

特定の実施形態において、糖代替物は、6個以上の原子を有し、2つ以上のヘテロ原子を有する環を含む。例えば、モルホリノ糖部分を含むヌクレオシド及びそのオリゴマー化合物における使用が報告されている（例えば、Braasch et al., Biochemistry, 2002, 41, 4503-4510ならびに米国特許第5,698,685号；同第5,166,315号；同第5,185,444号；及び同第5,034,506号参照）。本明細書で使用される場合、「モルホリノ」という用語は、次式を有する糖代替物を意味する。

40

【0 3 1 1】

【化 18】



【0312】

特定の実施形態において、モルホリノは、例えば、上記のモルホリノ構造に種々の置換基を付加するか、上記のモルホリノ構造の種々の置換基を変更することによって、修飾されてもよい。このような糖代替物は、本明細書中、「修飾モルホリノ」ともいう。

10

【0313】

修飾の組み合わせも提供され、限定するものではないが、2'-F-5'-メチル置換ヌクレオシド（開示されている他の5'，2'-ビス置換ヌクレオシドについては2008年8月21日に公開されたPCT国際出願WO2008/101157を参照）及びリボシル環酸素原子のSの置き換えと2'位の更なる置換（2005年6月16日に公開された米国特許出願公開US2005-0130923参照）、あるいは、二環式核酸の5'-置換（2007年11月22日に公開されたPCT国際出願WO2007/134181を参照；4'-CH₂-O-2'二環式ヌクレオシドは、5'位が5'-メチルまたは5'-ビニル基で更に置換される）などがある。炭素環二環式ヌクレオシドの合成及び調製についても、そのオリゴマー化及び生化学的研究とともに記載されている（例えば、Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129 (26), 8362-8379参照）。

20

【0314】

特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、天然に生じるヌクレオシド中のペントフラノシル残基の代わりに6員シクロヘキセニルを有するヌクレオシドである、修飾シクロヘキセニルヌクレオシドを1つ以上含む。修飾シクロヘキセニルヌクレオシドには、当該技術分野において記載されているものが含まれるが、これらに限定されない（例えば、所有者が共通である2010年4月10日に公開されたPCT国際出願WO2010/036696、Robeyns et al., J. Am. Chem. Soc., 2008, 130 (6), 1979-1984; Horvath et al., Tetrahedron Letters, 2007, 48, 3621-3623; Nauwelaerts et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129 (30), 9340-9348; Gu et al., Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2005, 24 (5-7), 993-998; Nauwelaerts et al., Nucleic Acids Research, 2005, 33 (8), 2452-2463; Robeyns et al., Acta Crystallographica, Section F: Structural Biology and Crystallization Communications, 2005, F61 (6), 585-586; Gu et al., Tetrahedron, 2004, 60 (9), 2111-2123; Gu et al., Oligonucleotides, 2003, 13 (6), 479-489; Wang et al., J. Org. Chem., 2003, 68, 4499-4505; Verbeure et al., Nucleic Acids Research, 2001, 29 (24), 4941-4947; Wang et al., J. Org. Chem., 2001, 66, 8478-82; Wang et al., Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2001, 20 (4-7), 785-788; Wang et al., J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 8595-8602; PCT出願公開WO06/047842; 及びPCT出願公開WO01/049687参照；各文献は、その全体を参照により本明細書に援用する）。特定の修飾シクロヘキセニルヌクレオシドは、式Xを有する。

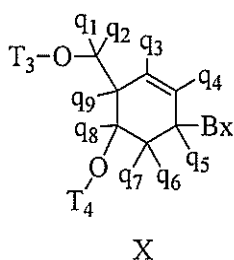
30

40

50

【0315】

【化19】



【0316】

10

式中、独立して、式Xの当該少なくとも1つのシクロヘキセニルヌクレオシド類似体のそれぞれについて、

Bxは、複素環式塩基部分であり、

T₃及びT₄は、それぞれ独立して、シクロヘキセニルヌクレオシド類似体をアンチセンス化合物に結合するヌクレオシド間結合基であり、あるいは、T₃及びT₄の一方は、テトラヒドロピランヌクレオシド類似体をアンチセンス化合物に結合するヌクレオシド間結合基であり、T₃及びT₄の他方は、H、ヒドロキシル保護基、結合されたコンジュゲート基または5'もしくは3'末端基であり、

q₁、q₂、q₃、q₄、q₅、q₆、q₇、q₈及びq₉は、それぞれ独立して、H、C₁～C₆アルキル、置換C₁～C₆アルキル、C₂～C₆アルケニル、置換C₂～C₆アルケニル、C₂～C₆アルキニル、置換C₂～C₆アルキニルまたは他の糖置換基である。

20

【0317】

多くの他の単環式、二環式及び三環式環系が当該技術分野において知られており、本明細書で提供されるオリゴマー化合物に組み込み、ヌクレオシドを修飾するために使用することができる糖代替物として好適である（例えば、総説論文：Leumann, Christian J. Bioorg. & Med. Chem., 2002, 10, 841-854参照）。このような環系は、その活性を更に向上させるための様々な追加の置換を受け得る。

【0318】

30

本明細書で使用されるとき、「2'-修飾糖」とは、2'位が修飾されたフラノシル糖を意味する。特定の実施形態において、このような修飾には、ハライド、限定するものではないが、置換及び無置換アルコキシ、置換及び無置換チオアルキル、置換及び無置換アミノアルキル、置換及び無置換アルキル、置換及び無置換アリルならびに置換及び無置換アルキニルから選択される置換基が含まれる。特定の実施形態において、2'修飾は、O[(CH₂)_nO]_mCH₃、O(CH₂)_nNH₂、O(CH₂)_nCH₃、O(CH₂)_nF、O(CH₂)_nONH₂、OCH₂C(=O)N(H)CH₃、及びO(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂（式中、n及びmは、1～約10である）を含むがこれらに限定されない置換基から選択される。他の2'-置換基は、C₁～C₁₂アルキル、置換アルキル、アルケニル、アルキニル、アルカリル、アラリル、O-アルカリルまたはO-アラリル、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、F、CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ONO₂、NO₂、N₃、NH₂、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリル、アミノアルキルアミノ、ポリアルキルアミノ、置換シリル、RNA切断基、レポーター基、インターカレーター、アンチセンス化合物の薬物動態特性を改善する基または薬力学特性を改善する基、及び類似の特性を有する他の置換基から選択することもできる。特定の実施形態において、修飾ヌクレオシドは、2'-MOE側鎖を含む（Baker et al., J. Biol. Chem., 1997, 272, 11944-12000）。このような2'-MOE置換は、非修飾ヌクレオシドならびに2'-O-メチル、O-プロピル及びO-アミノプロピルなどの他の修飾ヌクレオシドと比較して結合親和性を改善することが記載されている。2'-MOE置換基を有する

40

50

オリゴヌクレオチドはまた、*in vivo* 使用に有用な特徴を有する、遺伝子発現のアンチセンス阻害剤であることが示されている (Martin, Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486-504; Altmann et al., Chimia, 1996, 50, 168-176; Altmann et al., Biochem. Soc. Trans., 1996, 24, 630-637; 及び Altmann et al., Nucleosides Nucleotides, 1997, 16, 917-926)。

【0319】

本明細書で使用されるとき、「2'-修飾」または「2'-置換」は、2'位にHまたはOH以外の置換基を含む糖を含むヌクレオシドを指す。2'-修飾ヌクレオシドには、アリル、アミノ、アジド、チオ、O-アリル、O-C₁~C₁₀アルキル、-OCF₃、O-(CH₂)₂-O-CH₃、2'-O-(CH₂)₂SCH₃、O-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n)またはO-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n) (式中、各R_m及びR_nは、独立して、Hまたは置換もしくは無置換C₁~C₁₀アルキルである)などの架橋していない2'置換基を含むヌクレオシドが挙げられるが、これらに限定されない。2'-修飾ヌクレオシドは、他の修飾を、例えば、糖の他の位置及び／または核酸塩基に更に含み得る。

10

【0320】

本明細書で使用されるとき、「2'-F」は、糖環の2'位にフルオロ基を含む糖を含むヌクレオシドを指す。

20

【0321】

本明細書で使用されるとき、「2'-OMe」または「2'-OCH₃」、「2'-O-メチル」または「2'-メトキシ」は、それぞれ糖環の2'位に-OCH₃基を含む糖を含むヌクレオシドを指す。

【0322】

本明細書で使用されるとき、「MOE」または「2'-MOE」または「2'-OCH₂CH₂OCH₃」または「2'-O-メトキシエチル」は、それぞれ糖環の2'位に-OCH₂CH₂OCH₃基を含む糖を含むヌクレオシドを指す。

【0323】

修飾糖の調製方法は、当業者によく知られている。このような修飾糖の調製について教示するいくつかの代表的な米国特許には、限定するものではないが、米国特許第4,981,957号、同第5,118,800号、同第5,319,080号、同第5,359,044号、同第5,393,878号、同第5,446,137号、同第5,466,786号、同第5,514,785号、同第5,519,134号、同第5,567,811号、同第5,576,427号、同第5,591,722号、同第5,597,909号、同第5,610,300号、同第5,627,053号、同第5,639,873号、同第5,646,265号、同第5,670,633号、同第5,700,920号、同第5,792,847号及び同第6,600,032号ならびに2005年12月22日にWO2005/121371として公開された国際出願PCT/US2005/019219(2005年6月2日出願)が含まれ、これらのそれぞれの全体を参照により援用する。

30

40

【0324】

本明細書で使用されるとき、「オリゴヌクレオチド」とは、複数の結合されたヌクレオシドを含む化合物を指す。特定の実施形態において、複数のヌクレオシドのうちの1つ以上は、修飾されている。特定の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、1つ以上のリボヌクレオシド(RNA)及び／またはデオキシリボヌクレオシド(DNA)を含む。

【0325】

修飾糖部分を有するヌクレオチドにおいて、核酸塩基部分(天然、修飾またはこれらの組み合わせ)は、適切な核酸標的とのハイブリダイゼーションのために保持される。

【0326】

50

特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、修飾糖部分を有するヌクレオシドを1つ以上含む。特定の実施形態において、修飾糖部分は、2'-MOEである。特定の実施形態において、2'-MOE修飾ヌクレオシドは、ギャップマーモチーフ中に配置される。特定の実施形態において、修飾糖部分は、(4'-CH(CH₃)-O-2')架橋基を有する二環式ヌクレオシドである。特定の実施形態において、(4'-CH(CH₃)-O-2')修飾ヌクレオシドは、ギャップマーモチーフのウイング全体に配置される。

【0327】

修飾核酸塩基

核酸塩基（または塩基）の修飾または置換は、天然または合成の非修飾核酸塩基と構造的に区別可能であるが、機能的には交換可能である。天然核酸塩基と修飾核酸塩基はどちらも水素結合に関与することができる。このような核酸塩基修飾は、ヌクレアーゼ安定性、結合親和性または他の何らかの有益な生物学的特性をアンチセンス化合物に付与し得る。修飾核酸塩基には、合成及び天然核酸塩基、例えば、5-メチルシトシン（5-me-C）などが含まれる。特定の核酸塩基置換は、5-メチルシトシン置換を含め、標的核酸に対するアンチセンス化合物の結合親和性を増大させるのに特に有用である。例えば、5-メチルシトシン置換は、核酸二本鎖の安定性を0.6~1.2℃増加させることが示されている（Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., eds., Antisense Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278）。

10

20

【0328】

更なる非修飾核酸塩基には、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-アミノアデニン、アデニン及びグアニンの6-メチル及び他のアルキル誘導体、アデニン及びグアニンの2-プロピル及び他のアルキル誘導体、2-チオウラシル、2-チオチミン及び2-チオシトシン、5-ハロウラシル及びシトシン、5-プロピニル（-C≡C-CH₃）ウラシル及びシトシンならびにピリミジン塩基の他のアルキニル誘導体、6-アゾウラシル、シトシン及びチミン、5-ウラシル（シュードウラシル）、4-チオウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-チオアルキル、8-ヒドロキシル及び他の8-置換アデニン及びグアニン、5-ハロ、特に5-ブロモ、5-トリフルオロメチル及び他の5-置換ウラシル及びシトシン、7-メチルグアニン及び7-メチルアデニン、2-F-アデニン、2-アミノ-アデニン、8-アザグアニン及び8-アザアデニン、7-デアザグアニン及び7-デアザアデニンならびに3-デアザグアニン及び3-デアザアデニンが含まれる。

30

【0329】

複素環式塩基部分にはまた、プリン塩基またはピリミジン塩基が他の複素環、例えば、7-デアザアデニン、7-デアザグアニン、2-アミノピリジン及び2-ピリドンで置き換えられたものも含まれる。アンチセンス化合物の結合親和性を増大させるのに特に有用な核酸塩基には、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジンならびにN-2、N-6及びO-6置換プリン、例えば、2-アミノプロピルアデニン、5-プロピニルウラシル及び5-プロピニルシトシンが含まれる。

40

【0330】

特定の実施形態において、AGT核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物は、1つ以上の修飾核酸塩基を含む。特定の実施形態において、AGT核酸に対して標的化されたギャップ拡大アンチセンスオリゴヌクレオチドは、1つ以上の修飾核酸塩基を含む。特定の実施形態において、修飾核酸塩基のうちの少なくとも1つは、5-メチルシトシンである。特定の実施形態において、各シトシンは、5-メチルシトシンである。

【0331】

医薬組成物を製するための組成物及び方法

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、医薬組成物または製剤の調製のために、薬学的に

50

許容される活性物質または不活性物質と混合され得る。医薬組成物を製するための組成物及び方法は、限定するものではないが、投与経路、疾患の程度または投与される用量を含む、多くの基準に依存する。

【0332】

A G T 核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物は、当該アンチセンス化合物を、好適な薬学的に許容される希釈剤または担体と組み合わせることによって、医薬組成物に利用することができる。薬学的に許容される希釈剤には、水、例えば、注射用水（W F I）が含まれる。薬学的に許容される希釈剤には、生理食塩水、例えば、リン酸緩衝生理食塩水（P B S）が含まれる。水または生理食塩水は、非経口的に送達される組成物での使用に好適な希釈剤である。したがって、一実施形態において、A G T 核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物と、薬学的に許容される希釈剤とを含む医薬組成物が、本明細書に記載される方法において利用される。特定の実施形態において、薬学的に許容される希釈剤は、水または生理食塩水である。特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。

10

【0333】

アンチセンス化合物を含む医薬組成物は、ヒトを含む動物に投与したときに、生物学的に活性な代謝産物またはその残基を（直接的または間接的に）もたらすことができる、あらゆる薬学的に許容される塩、エステルもしくは当該エステルの塩または任意の他のオリゴヌクレオチドを包含する。したがって、例えば、本開示はまた、アンチセンス化合物の薬学的に許容される塩、プロドラッグ、当該プロドラッグの薬学的に許容される塩及び他の生物学的同等物に関する。好適な薬学的に許容される塩には、ナトリウム塩及びカリウム塩が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0334】

本明細書に記載の化合物の「薬学的に許容される塩」は、当該技術分野においてよく知られている方法によって調製することができる。薬学的に許容される塩の概説については、Stahl and Wermuth, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002)を参照されたい。ヒトへの治療用投与には、アンチセンスオリゴヌクレオチドのナトリウム塩が有用であり、十分な認容性を示す。したがって、一実施形態において、本明細書に記載の化合物は、ナトリウム塩の形態である。

30

【0335】

プロドラッグは、アンチセンス化合物の一端または両端に、体内の内因性ヌクレアーゼによって切断されて活性アンチセンス化合物を形成する、更なるヌクレオシドの組み込みを含み得る。

【0336】

投薬

特定の実施形態において、医薬組成物は、投薬レジメン（例えば、用量、投与頻度及び継続期間）に従って投与され、投薬レジメンは、所望の効果を達成するように選択され得る。所望の効果は、例えば、A G T の減少またはA G T に関連する疾患、障害もしくは病態の予防、減少、改善もしくは進行遅延であり得る。

40

【0337】

特定の実施形態において、投薬レジメンの変数を調整して、対象における医薬組成物の所望の濃度をもたらしようにする。投薬レジメンに関して使用される「医薬組成物の濃度」は、化合物、オリゴヌクレオチド、または医薬組成物の活性成分を指し得る。例えば、特定の実施形態において、所望の効果を達成するのに十分な量の医薬組成物の組織濃度または血漿濃度を得るために、用量及び投与頻度を調整する。

【0338】

投薬は、治療すべき疾患状態の重症度及び応答性に依存し、その治療クールは数日から数ヶ月、あるいは治癒が達成されるか、疾患状態の軽減が達成されるまで続く。投薬は、

50

薬効及び代謝にも依存する。特定の実施形態において、用量は、体重 1 kg あたり 0.01 μ g ~ 100 mg または 0.001 mg ~ 1000 mg の用量範囲内であり、毎日、毎週、隔週、毎月、3 ヶ月毎、半年毎もしくは毎年 1 回以上、または 2 ~ 20 年毎に 1 回投与することができる。治療が奏効した後、患者は、疾患状態の再発を防ぐために、維持療法を受けるのが望ましい場合があり、この場合、オリゴヌクレオチドは、体重 1 kg あたり 0.01 μ g ~ 100 mg の範囲または 0.001 mg ~ 1000 mg の用量範囲の維持用量で、毎日 1 回以上から 20 年毎に 1 回、投与される。

【0339】

投与

本発明の化合物または医薬組成物は、局所的または全身的治療が望ましいかに応じて、また治療対象領域に応じて、様々な方法で投与することができる。投与は、吸入（すなわち、肺）、経腸（すなわち、腸溶性）、非経口または局所投与であってよい。

10

【0340】

特定の実施形態において、本明細書に記載される化合物及び組成物は、非経口投与される。非経口投与には、静脈内、動脈内、皮下、腹腔内、眼内、筋肉内、頭蓋内、髄腔内、髄内、室内または腫瘍内の注射または注入が含まれるが、これらに限定されない。非経口投与にはまた、経鼻投与が含まれる。

【0341】

特定の実施形態において、非経口投与は、注入による。注入は、長期的、または連続的、または短期的、または断続的であり得る。特定の実施形態において、注入薬剤は、ポンプで送達される。

20

【0342】

特定の実施形態において、非経口投与は、注射による。注射は、シリンジまたはポンプにより送達することができる。特定の実施形態において、注射は、ボーラス注射である。特定の実施形態において、注射は、組織または器官に直接投与される。

【0343】

特定の実施形態において、非経口投与用製剤は、緩衝剤、希釈剤及び他の好適な添加剤、例えば、限定するものではないが、浸透増強剤、担体化合物及び他の薬学的に許容される担体または賦形剤も含有し得る無菌水溶液を含み得る。

【0344】

特定の実施形態において、本明細書に記載される化合物及び組成物は、経腸投与される。腸内投与には、経口、経粘膜、腸または直腸（例えば、坐剤、浣腸）が含まれるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、化合物または組成物の経腸投与用製剤は、限定するものではないが、薬学的担体、賦形剤、散剤または顆粒剤、微粒子、ナノ粒子、水もしくは非水性媒体中の懸濁剤もしくは液剤、カプセル剤、ゲルカプセル剤、サシェ剤、錠剤またはミニ錠剤を含み得る。粘稠剤、矯味剤、希釈剤、乳化剤、分散助剤または結合剤が望ましい場合もある。特定の実施形態において、経腸製剤は、本明細書で提供される化合物が 1 つ以上の浸透増強剤、界面活性剤及びキレート化剤とともに投与されるものである。

30

【0345】

特定の実施形態において、投与は、経肺投与を含む。特定の実施形態において、経肺投与は、エアロゾル化したオリゴヌクレオチドを吸入によって対象の肺に送達することを含む。エアロゾル化したオリゴヌクレオチドを対象が吸入すると、オリゴヌクレオチドは、肺胞のマクロファージ、好酸球、上皮、血管内皮及び細気管支上皮を含む、正常な肺組織及び炎症性肺組織の両方の細胞に分布する。修飾オリゴヌクレオチドを含む医薬組成物の送達に好適な装置には、標準的なネブライザー装置が含まれるが、これに限定されない。更なる好適な装置には、ドライパウダー吸入器または定量吸入器が含まれる。

40

【0346】

特定の実施形態において、医薬組成物は、全身曝露ではなく局所曝露を達成するように投与される。例えば、経肺投与は、最小の全身曝露で、医薬組成物を肺に送達する。

50

【0347】

コンジュゲート化アンチセンス化合物

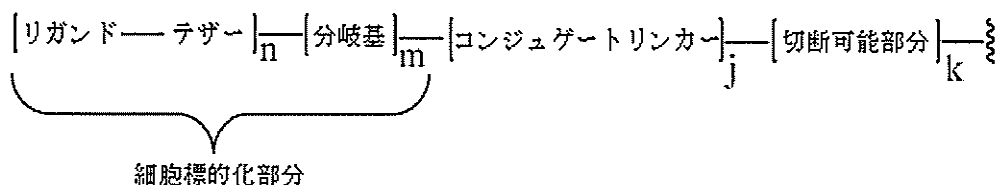
特定の実施形態において、本明細書で提供されるオリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物は、1つ以上のコンジュゲート基の共有結合によって修飾される。一般に、コンジュゲート基は、結合されるオリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物の1つ以上の特性、限定するものではないが、薬力学、薬物動態、安定性、結合、吸収、細胞分布、細胞取込み、電荷及びクリアランスなどの特性を変更する。本明細書で使用されるとき、「コンジュゲート基」とは、オリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物に結合された原子団を含む特性基 (radical group) を意味する。一般に、コンジュゲート基は、結合される化合物の1つ以上の特性、限定するものではないが、薬力学、薬物動態、結合、吸収、細胞分布、細胞取込み、電荷及び/またはクリアランスなどの特性を変更する。コンジュゲート基は、化学技術分野で日常的に使用されており、コンジュゲート基をオリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物に共有結合させるコンジュゲートリンカーを含み得る。特定の実施形態において、コンジュゲート基は、コンジュゲート基をオリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物に共有結合させる切断可能部分を含む。特定の実施形態において、コンジュゲート基は、コンジュゲート基をオリゴヌクレオチドまたはオリゴマー化合物に共有結合させるコンジュゲートリンカー及び切断可能部分を含む。特定の実施形態において、コンジュゲート基は、次の一般式を有する。

10

【0348】

【化20】

20



【0349】

式中、nは1～約3であり、nが1であるとき、mは0であり、あるいはnが2または3であるとき、mは1であり、jは1または0であり、kは1または0であり、jとkの合計は少なくとも1である。

30

【0350】

特定の実施形態において、nは1であり、jは1であり、kは0である。特定の実施形態において、nは1であり、jは0であり、kは1である。特定の実施形態において、nは1であり、jは1であり、kは1である。特定の実施形態において、nは2であり、jは1であり、kは0である。特定の実施形態において、nは2であり、jは0であり、kは1である。特定の実施形態において、nは2であり、jは1であり、kは1である。特定の実施形態において、nは3であり、jは1であり、kは0である。特定の実施形態において、nは3であり、jは0であり、kは1である。特定の実施形態において、nは3であり、jは1であり、kは1である。

【0351】

40

コンジュゲート基は、本明細書において、オリゴヌクレオチドなどのオリゴマー化合物への共有結合を形成するための結合を提供する基として示される。特定の実施形態において、オリゴマー化合物の結合点は、3'末端ヌクレオシドまたは修飾ヌクレオシドである。特定の実施形態において、オリゴマー化合物の結合点は、3'末端ヌクレオシドまたは修飾ヌクレオシドの3'-ヒドロキシル基の3'-酸素原子である。特定の実施形態において、オリゴマー化合物の結合点は、5'末端ヌクレオシドまたは修飾ヌクレオシドである。特定の実施形態において、オリゴマー化合物の結合点は、5'末端ヌクレオシドまたは修飾ヌクレオシドの5'-ヒドロキシル基の5'-酸素原子である。特定の実施形態において、オリゴマー化合物の結合点は、ヌクレオシド、修飾ヌクレオシドまたはヌクレオシド間結合上の任意の反応性部位である。

50

【0352】

本明細書で使用されるとき、「切断可能部分」及び「切断可能な結合」とは、特定の生理学的条件下で分裂または切断することが可能な切断可能な結合または原子団を意味する。特定の実施形態において、切断可能部分は、切断可能な結合である。特定の実施形態において、切断可能部分は、切断可能な結合を含む。特定の実施形態において、切断可能部分は、原子団である。特定の実施形態において、切断可能部分は、細胞内部またはリソソームなどの細胞内区画内部で選択的に切断される。特定の実施形態において、切断可能部分は、ヌクレアーゼなどの内因性酵素によって選択的に分解される。特定の実施形態において、切断可能部分は、1、2、3、4または4つ以上の切断可能な結合を有する原子団を含む。

10

【0353】

特定の実施形態において、コンジュゲート基は、切断可能部分を含む。このような特定の実施形態において、切断可能部分は、オリゴマー化合物をコンジュゲートリンカーに共有結合させる。このような特定の実施形態において、切断可能部分は、オリゴマー化合物を細胞標的化部分に共有結合させる。

【0354】

特定の実施形態において、切断可能な結合は、アミド、ポリアミド、エステル、エーテル、ホスホジエステルの一方もしくは両方のエステル、リン酸エステル、カルバメート、ジスルフィドまたはペプチドのうちから選択される。特定の実施形態において、切断可能な結合は、ホスホジエステルの一方のエステルである。特定の実施形態において、切断可能な結合は、ホスホジエステルの一方もしくは両方のエステルである。特定の実施形態において、切断可能部分は、オリゴマー化合物と残りのコンジュゲート基との間のホスホジエステル結合である。特定の実施形態において、切断可能部分は、オリゴマー化合物と残りのコンジュゲート基との間に位置しているホスホジエステル結合を含む。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸またはホスホジエステルを含む。特定の実施形態において、切断可能部分は、ホスホジエステルまたはホスホロチオエート結合のいずれかによってコンジュゲートリンカーに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、ホスホジエステル結合によってコンジュゲートリンカーに結合される。特定の実施形態において、コンジュゲート基は、切断可能部分を含まない。

20

【0355】

特定の実施形態において、切断可能部分は、切断可能なヌクレオシドまたは修飾ヌクレオシドである。特定の実施形態において、ヌクレオシドまたは修飾ヌクレオシドは、プリン、置換プリン、ピリミジンまたは置換ピリミジンから選択される、任意に保護された複素環式塩基を含む。特定の実施形態において、切断可能部分は、ウラシル、チミン、シトシン、4-N-ベンゾイルシトシン、5-メチルシトシン、4-N-ベンゾイル-5-メチルシトシン、アデニン、6-N-ベンゾイルアデニン、グアニン及び2-N-イソブチルグアニンから選択されるヌクレオシドである。

30

【0356】

特定の実施形態において、切断可能部分は、ホスホジエステル結合によってオリゴマー化合物の3'末端または5'末端ヌクレオシドのいずれかに結合され、かつホスホジエステルまたはホスホロチオエート結合によって残りのコンジュゲート基に共有結合された、2'-デオキシヌクレオシドである。特定の実施形態において、切断可能部分は、ホスホジエステル結合によってオリゴマー化合物の3'末端または5'末端ヌクレオシドのいずれかに結合され、かつホスホジエステルまたはホスホロチオエート結合によって残りのコンジュゲート基に共有結合された、2'-デオキシアデノシンである。特定の実施形態において、切断可能部分は、ホスホジエステル結合によって3'末端ヌクレオシドまたは修飾ヌクレオシドの3'-ヒドロキシル基の3'-酸素原子に結合された2'-デオキシアデノシンである。特定の実施形態において、切断可能部分は、ホスホジエステル結合によって5'末端ヌクレオシドまたは修飾ヌクレオシドの5'-ヒドロキシル基の5'-酸素原子に結合された2'-デオキシアデノシンである。特定の実施形態において、切断可能

40

50

部分は、オリゴマー化合物のヌクレオシドまたは修飾ヌクレオシドの2'位に結合される。

【0357】

本明細書で使用されるとき、コンジュゲート基との関係における「コンジュゲートリンカー」とは、直接的または切断可能部分を介して、細胞標的化部分をオリゴマー化合物に共有結合させる任意の原子または原子団を含む、コンジュゲート基の一部を意味する。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、アルキル、アミノ、オキソ、アミド、ジスルフィド、ポリエチレングリコール、エーテル、チオエーテル(−S−)及びヒドロキシルアミノ(−O−N(H)−)から選択される基を含む。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、アルキル基、アミノ基、オキソ基、アミド基及びエーテル基から選択される基を含む。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、アルキル基及びアミド基から選択される基を含む。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、アルキル基及びエーテル基から選択される基を含む。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、少なくとも1つのリン結合基を含む。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、少なくとも1つのホスホジエステル基を含む。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、少なくとも1つの中性結合基を含む。

10

【0358】

特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、オリゴマー化合物に共有結合される。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、オリゴマー化合物及び分岐基に共有結合される。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、オリゴマー化合物及び係留リガンドに共有結合される。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、切断可能部分に共有結合される。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、切断可能部分及び分岐基に共有結合される。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、切断可能部分及び係留リガンドに共有結合される。特定の実施形態において、コンジュゲートリンカーは、1つ以上の切断可能な結合を含む。特定の実施形態において、コンジュゲート基は、コンジュゲートリンカーを含まない。

20

【0359】

本明細書で使用されるとき、「分岐基」とは、2つ以上のテザーリガンド及びコンジュゲート基の残りの部分に対して共有結合を形成することができる少なくとも3つの位置を有する原子団を意味する。一般に、分岐基は、コンジュゲートリンカー及び／または切断可能部分を介して、係留リガンドをオリゴマー化合物に接続するための複数の反応部位を提供する。特定の実施形態において、分岐基は、アルキル、アミノ、オキソ、アミド、ジスルフィド、ポリエチレングリコール、エーテル、チオエーテル及びヒドロキシルアミノ基から選択される基を含む。特定の実施形態において、分岐基は、アルキル、アミノ、オキソ、アミド、ジスルフィド、ポリエチレングリコール、エーテル、チオエーテル及びヒドロキシルアミノ基から選択される基を含む、分枝状脂肪族基を含む。このような特定の実施形態において、分枝状脂肪族基は、アルキル基、アミノ基、オキソ基、アミド基及びエーテル基から選択される基を含む。このような特定の実施形態において、分枝状脂肪族基は、アルキル基、アミノ基及びエーテル基から選択される基を含む。このような特定の実施形態において、分枝状脂肪族基は、アルキル基及びエーテル基から選択される基を含む。特定の実施形態において、分岐基は、単環式環系または多環式環系を含む。

30

40

【0360】

特定の実施形態において、分岐基は、コンジュゲートリンカーに共有結合される。特定の実施形態において、分岐基は、切断可能部分に共有結合される。特定の実施形態において、分岐基は、コンジュゲートリンカー及び係留リガンドのそれぞれに共有結合される。特定の実施形態において、分岐基は、1つ以上の切断可能な結合を含む。特定の実施形態において、コンジュゲート基は、分岐基を含まない。

【0361】

特定の実施形態において、本明細書で提供されるコンジュゲート基は、少なくとも1つの係留リガンドを有する細胞標的化部分を含む。特定の実施形態において、細胞標的化部

50

分は、分岐基に共有結合した2つの係留リガンドを含む。特定の実施形態において、細胞標的化部分は、分岐基に共有結合した3つの係留リガンドを含む。

【0362】

本明細書で使用されるとき、「テザー」とは、リガンドをコンジュゲート基の残りの部分に接続する原子団を意味する。特定の実施形態において、各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル基、置換アルキル基、エーテル基、チオエーテル基、ジスルフィド基、アミノ基、オキシ基、アミド基、ホスホジエステル基及びポリエチレングリコール基から選択される1つ以上の基を含む、線状脂肪族基である。特定の実施形態において、各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル基、エーテル基、チオエーテル基、ジスルフィド基、アミノ基、オキシ基、アミド基及びポリエチレングリコール基から選択される1つ以上の基を含む、線状脂肪族基である。特定の実施形態において、各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル基、置換アルキル基、ホスホジエステル基、エーテル基及びアミノ基、オキシ基、アミド基から選択される1つ以上の基を含む、線状脂肪族基である。特定の実施形態において、各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル基、エーテル基及びアミノ基、オキシ基、アミド基から選択される1つ以上の基を含む、線状脂肪族基である。特定の実施形態において、各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル基、アミノ基及びオキシ基から選択される1つ以上の基を含む、線状脂肪族基である。特定の実施形態において、各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル基及びオキシ基から選択される1つ以上の基を含む、線状脂肪族基である。特定の実施形態において、各テザーは、少なくとも1つのリン結合基または中性結合基を含む。

10

20

【0363】

特定の実施形態において、テザーは、1つ以上の切断可能な結合を含む。特定の実施形態において、各係留リガンドは、分岐基に結合される。特定の実施形態において、各係留リガンドは、アミド基を介して分岐基に結合される。特定の実施形態において、各係留リガンドは、エーテル基を介して分岐基に結合される。特定の実施形態において、各係留リガンドは、リン結合基または中性結合基を介して分岐基に結合される。特定の実施形態において、各係留リガンドは、ホスホジエステル基を介して分岐基に結合される。特定の実施形態において、各テザーは、アミド基またはエーテル基のいずれかを介してリガンドに結合される。特定の実施形態において、各テザーは、エーテル基を介してリガンドに結合される。

30

【0364】

特定の実施形態において、各テザーは、リガンドと分岐基との間の鎖長が約8～約20個の原子を含む。特定の実施形態において、各テザーは、リガンドと分岐基との間の鎖長が約10～約18個の原子を含む。特定の実施形態において、各テザーは、鎖長が約13個の原子を含む。

【0365】

特定の実施形態において、本開示は、各リガンドがテザーを介してコンジュゲート基の残りの部分に共有結合しているリガンドを提供する。特定の実施形態において、各リガンドは、標的細胞上の少なくとも1種の受容体に対する親和性を有するように選択される。特定の実施形態において、リガンドは、哺乳動物の肝臓細胞の表面上にある少なくとも1種の受容体に対する親和性を有するものが選択される。特定の実施形態において、肝アシアラ糖タンパク質受容体(ASGPR)に対する親和性を有するリガンドが選択される。特定の実施形態において、各リガンドは、炭水化物である。特定の実施形態において、各リガンドは、独立して、ガラクトース、N-アセチルガラクトサミン、マンノース、グルコース、グルコサモン及びフコースから選択される。特定の実施形態において、各リガンドは、N-アセチルガラクトサミン(GalNAc)である。特定の実施形態において、標的化部分は、1～3つのリガンドを含む。特定の実施形態において、標的化部分は、3つのリガンドを含む。特定の実施形態において、標的化部分は、2つのリガンドを含む

40

50

。特定の実施形態において、標的化部分は、1つのリガンドを含む。特定の実施形態において、標的化部分は、3つのN-アセチルガラクトサミンリガンドを含む。特定の実施形態において、標的化部分は、2つのN-アセチルガラクトサミンリガンドを含む。特定の実施形態において、標的化部分は、1つのN-アセチルガラクトサミンリガンドを含む。

【0366】

特定の実施形態において、各リガンドは、炭水化物、炭水化物誘導体、修飾炭水化物、多価炭水化物クラスター、多糖、修飾多糖または多糖誘導体である。特定の実施形態において、各リガンドは、アミノ糖またはチオ糖である。例えば、アミノ糖は、当該技術分野において知られている多数の化合物、例えば、グルコサミン、シアル酸、 α -D-ガラクトサミン、N-アセチルガラクトサミン、2-アセトアミド-2-デオキシ-D-ガラクトピラノース (GalNAc)、2-アミノ-3-O-[(R)-1-カルボキシエチル]-2-デオキシ- β -D-グルコピラノース (β -ムラミン酸)、2-デオキシ-2-メチルアミノ-L-グルコピラノース、4, 6-ジデオキシ-4-ホルムアミド-2, 3-ジ-O-メチル-D-マンノピラノース、2-デオキシ-2-スルホアミノ-D-グルコピラノース及びN-スルホ-D-グルコサミン及びN-グリコロイル- α -ノイラミン酸から選択され得る。例えば、チオ糖は、5-チオ- β -D-グルコピラノース、メチル2, 3, 4-トリ-O-アセチル-1-チオ-6-O-トリチル- α -D-グルコピラノシド、4-チオ- β -D-ガラクトピラノース及びエチル3, 4, 6, 7-テトラ-O-アセチル-2-デオキシ-1, 5-ジチオ- α -D-グルコヘプトピラノシドからなる群から選択され得る。

10

20

【0367】

特定の実施形態において、本明細書で提供されるコンジュゲート基は、炭水化物クラスターを含む。本明細書で使用されるとき、「炭水化物クラスター」とは、2つ以上の炭水化物残基がテザー基を介して分岐基に結合されたコンジュゲート基の一部を意味する（例えば、炭水化物コンジュゲートクラスターの例については、Maier et al., “Synthesis of Antisense Oligonucleotides Conjugated to a Multivalent Carbohydrate Cluster for Cellular Targeting,” Biocojugate Chemistry, 2003, (14): 18-29 (その全体を参照により本明細書に援用する) または Rensen et al., “Design and Synthesis of Novel N-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor,” J. Med. Chem. 2004, (47): 5798-5808を参照されたい)。

30

【0368】

本明細書で使用されるとき、「修飾炭水化物」とは、天然に生じる炭水化物に対して1つ以上の化学修飾を有する任意の炭水化物を意味する。

【0369】

本明細書で使用されるとき、「炭水化物誘導体」とは、炭水化物を出発物質または中間体として使用して合成することができる任意の化合物を意味する。

40

【0370】

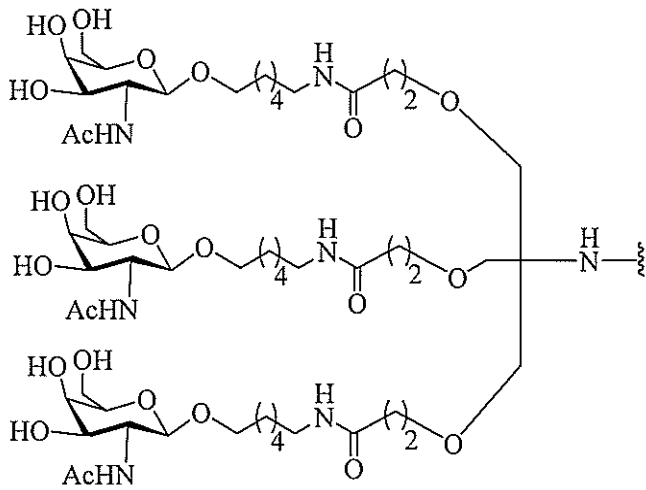
本明細書で使用されるとき、「炭水化物」とは、天然に生じる炭水化物、修飾された炭水化物、または炭水化物誘導体を意味する。

【0371】

特定の実施形態において、細胞標的化部分が次式を有するコンジュゲート基が提供される。

【0372】

【化 2 1】



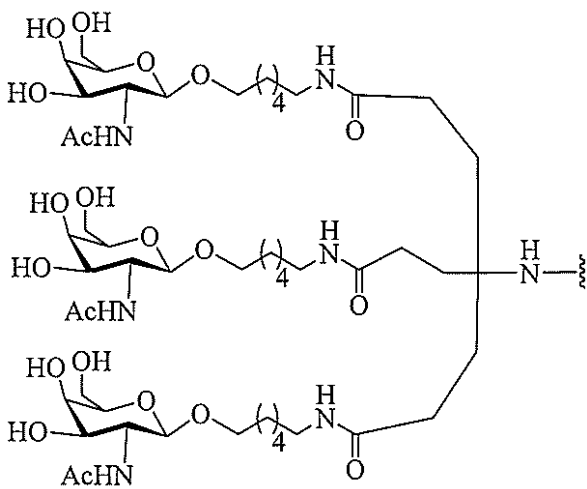
10

【 0 3 7 3 】

特定の実施形態において、細胞標的化部分が次式を有するコンジュゲート基が提供される。

【 0 3 7 4 】

【化 2 2】



20

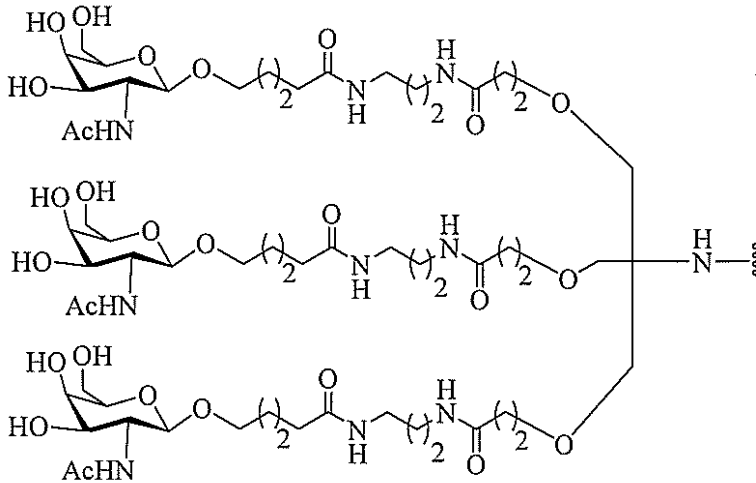
【 0 3 7 5 】

特定の実施形態において、細胞標的化部分が次式を有するコンジュゲート基が提供される。

【 0 3 7 6 】

30

【化 2 3】



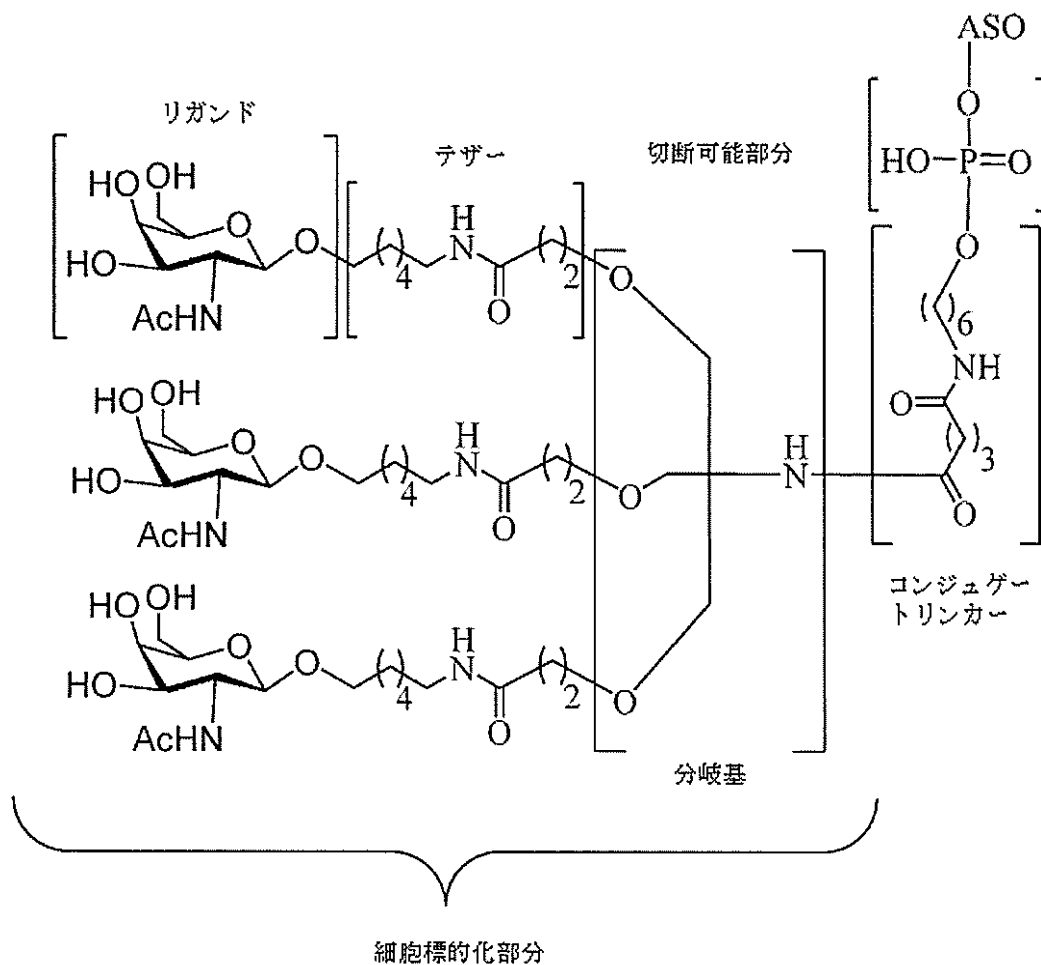
10

【0377】

特定の実施形態において、コンジュゲート基は、次式を有する。

【0378】

【化 2 4】



20

30

40

【0379】

特定の実施形態において、上式に示すコンジュゲート基に結合されたアンチセンスオリゴヌクレオチドは、配列番号1914の核酸塩基配列を有する。

【0380】

上述したコンジュゲート基、コンジュゲート化オリゴマー化合物、例えば、コンジュゲ

50

ート基、テザー、コンジュゲートリンカー、分岐基、リガンド、切断可能部分及び他の修飾を含むアンチセンス化合物などのいくつかの調製について教示する、代表的な米国特許、米国特許出願公開及び国際特許出願公開には、限定するものではないが、US 5, 994, 517、US 6, 300, 319、US 6, 660, 720、US 6, 906, 182、US 7, 262, 177、US 7, 491, 805、US 8, 106, 022、US 7, 723, 509、US 2006/0148740、US 2011/0123520、WO 2013/033230、WO 2014/179620及びWO 2012/037254が含まれ、これらのそれぞれの全体を参照により本明細書に援用する。

【0381】

上述したコンジュゲート基、コンジュゲート化オリゴマー化合物、例えば、コンジュゲート基、テザー、コンジュゲートリンカー、分岐基、リガンド、切断可能部分及び他の修飾を含むアンチセンス化合物などのいくつかの調製について教示する、代表的な公開物には、限定するものではないが、BIESSEN et al., "The Cholesterol Derivative of a Triantennary Galactoside with High Affinity for the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor: a Potent Cholesterol Lowering Agent" J. Med. Chem. (1995) 38:1846-1852, BIESSEN et al., "Synthesis of Cluster Galactosides with High Affinity for the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (1995) 38:1538-1546, LEE et al., "New and more efficient multivalent glyco-ligands for asialoglycoprotein receptor of mammalian hepatocytes" Bioorganic & Medicinal Chemistry (2011) 19:2494-2500, RENSEN et al., "Determination of the Upper Size Limit for Uptake and Processing of Ligands by the Asialoglycoprotein Receptor on Hepatocytes in Vitro and in Vivo" J. Biol. Chem. (2001) 276(40):37577-37584, RENSEN et al., "Design and Synthesis of Novel N-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (2004) 47:5798-5808, SLIEDREGT et al., "Design and Synthesis of Novel Amphiphilic Dendritic Galactosides for Selective Targeting of Liposomes to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (1999) 42:609-618及びValentijn et al., "Solid-phase synthesis of lysine-based cluster galactosides with high affinity for the Asialoglycoprotein Receptor" Tetrahedron, 1997, 53(2), 759-770が含まれ、これらのそれぞれの全体を参照により本明細書に援用する。

【0382】

特定の実施形態において、コンジュゲート基には、限定するものではないが、インターカレーター、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ポリエチレングリコール、チオエーテル、ポリエーテル、コレステロール、チオコレステロール、コール酸部分、葉酸、脂質、リン脂質、ビオチン、フェナジン、フェナントリジン、アントラキノン、アダマン

10

20

30

40

50

タン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン及び色素が含まれる。特定のコンジュゲート基については、これまでに記載されており、例えば、コレステロール部分 (Lettinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556)、コール酸 (Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053-1060)、チオエーテル、例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール (Manoharan et al., Ann. N. Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3, 2765-2770)、チオコレステロール (Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538)、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオール残基もしくはウンデシル残基 (Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10, 1111-1118; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327-330; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49-54)、リン脂質、例えば、ヘキサデシル-rac-グリセロールもしくはトリエチルアンモニウム 1, 2-ジオ-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホネート (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654; Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777-3783)、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖 (Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969-973) またはアダマンタン酢酸 (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654)、パルミチル部分 (Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237)、オクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部分 (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937) がある。

10

20

【0383】

特定の実施形態において、コンジュゲート基は、有効な薬剤物質、例えば、アスピリン、ワルファリン、フェニルブタゾン、イブプロフェン、スプロフェン、フェンブフェン、ケトプロフェン、(S)-(+)-プラノプロフェン、カルプロフェン、ダンシルサルコシン、2, 3, 5-トリヨード安息香酸、フルフェナム酸、フォリン酸、ベンゾチアジジド、クロロチアジド、ジアゼピン、インドメチシン、バルビツール酸系薬、セファロスポリン、サルファ薬、抗糖尿病薬、抗菌性物質または抗生物質を含む。

30

【0384】

コンジュゲートリンカーのいくつかの非限定的な例には、ピロリジン、8-アミノ-3, 6-ジオキサオクタン酸 (ADO)、4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボン酸スクシンイミジル (SMCC) 及び6-アミノヘキサン酸 (AHEXまたはAHA) が挙げられる。他のコンジュゲートリンカーには、限定するものではないが、置換 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、置換もしくは無置換 $C_2 \sim C_{10}$ アルケニル、または置換もしくは無置換 $C_2 \sim C_{10}$ アルキニルが含まれ、ここで、好ましい置換基の非限定的なリストには、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ、チオール、チオアルコキシ、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル及びアルキニルが含まれる。

40

【0385】

コンジュゲート基は、オリゴヌクレオチドの一末端もしくは両末端に結合され得 (末端コンジュゲート基)、かつ/または任意の内側の位置に結合され得る。

【0386】

特定の実施形態において、コンジュゲート基は、オリゴマー化合物のオリゴヌクレオチドの3'末端にある。特定の実施形態において、コンジュゲート基は、3'末端近傍にあ

50

る。特定の実施形態において、コンジュゲートは、オリゴマー化合物の3'末端であるが、1つ以上の末端基ヌクレオシドの前に結合される。特定の実施形態において、コンジュゲート基は、末端基内に位置する。

【0387】

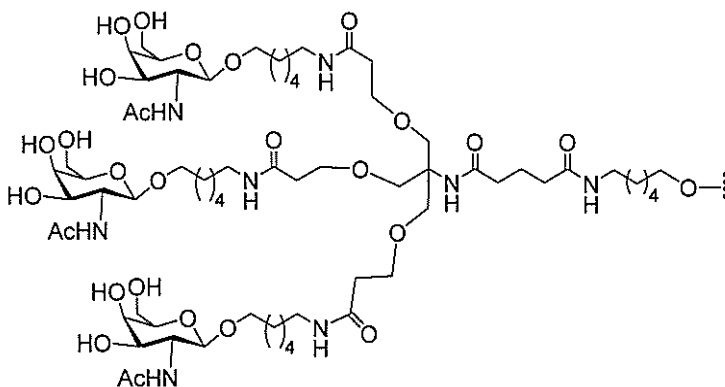
特定の実施形態において、コンジュゲート基は、オリゴマー化合物のオリゴヌクレオチドの5'末端にある。特定の実施形態において、コンジュゲート基は、5'末端近傍にある。

【0388】

特定の実施形態において、本明細書に記載されるAGTを標的にする修飾オリゴヌクレオチドは、GalNAcコンジュゲート基を更に含む。特定の実施形態において、GalNAcコンジュゲート基は、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃である。特定の実施形態において、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートは、次式を有する。

【0389】

【化25】



【0390】

特定の実施形態において、修飾オリゴヌクレオチドは、切断可能部分によって、5'-トリスヘキシルアミノ-(THA)-C6-GalNAc₃コンジュゲートに結合される。特定の実施形態において、切断可能部分は、リン酸基である。

【0391】

細胞培養及びアンチセンス化合物処理

アンチセンス化合物のAGT核酸のレベル、活性または発現に対する作用は、様々な細胞種において*in vitro*で試験することができる。このような分析に使用される細胞種は、供給業者（例えば、American Type Culture Collection, Manassas, VA; Zen-Bio, Inc., Research Triangle Park, NC; Clonetics Corporation, Walkersville, MD）から入手可能であり、供給業者の説明書に従って市販の試薬（例えば、Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA）を使用して細胞を培養する。例示的な細胞種には、HepG2細胞、Hep3B細胞、Huh7（肝細胞癌）細胞、初代肝細胞、A549細胞、GM04281線維芽細胞及びLLC-MK2細胞が含まれるが、これらに限定されない。

【0392】

アンチセンスオリゴヌクレオチドの*in vitro*試験

ここでは、細胞をアンチセンスオリゴヌクレオチドで処理するための方法について記載する。この方法は、他のアンチセンス化合物による処理のために適宜変更され得る。

【0393】

一般に、培養中の細胞が約60～80%コンフルエントに達したときに、細胞をアンチセンスオリゴヌクレオチドで処理する。

【0394】

アンチセンスオリゴヌクレオチドを培養細胞中に導入するために一般に使用される試薬の1つには、カチオン性脂質トランスフェクション試薬L I P O F E C T I N（登録商標）（Invitrogen（Carlsbad, CA））が含まれる。OPTI-MEM（登録商標）1（Invitrogen（Carlsbad, CA））中でアンチセンスオリゴヌクレオチドをL I P O F E C T I N（登録商標）と混合し、所望のアンチセンスオリゴヌクレオチド最終濃度及び典型的に100nMのアンチセンスオリゴヌクレオチドにつき2～12ug/mLの範囲であるL I P O F E C T I N（登録商標）濃度を得る。

【0395】

アンチセンスオリゴヌクレオチドを培養細胞中に導入するために使用される別の試薬には、L I P O F E C T A M I N E 2 0 0 0（登録商標）（Invitrogen（Carlsbad, CA））が含まれる。OPTI-MEM（登録商標）1低血清培地（Invitrogen（Carlsbad, CA））中でアンチセンスオリゴヌクレオチドをL I P O F E C T A M I N E 2 0 0 0（登録商標）と混合し、所望のアンチセンスオリゴヌクレオチド最終濃度及び典型的に100nMのアンチセンスオリゴヌクレオチドにつき2～12ug/mLの範囲であるL I P O F E C T A M I N E 2 0 0 0（登録商標）濃度を得る。

【0396】

アンチセンスオリゴヌクレオチドを培養細胞中に導入するために使用される別の試薬には、Cytfectin（登録商標）（Invitrogen（Carlsbad, CA））が含まれる。OPTI-MEM（登録商標）1低血清培地（Invitrogen（Carlsbad, CA））中でアンチセンスオリゴヌクレオチドをCytfectin（登録商標）と混合し、所望のアンチセンスオリゴヌクレオチド最終濃度及び典型的に100nMのアンチセンスオリゴヌクレオチドにつき2～12ug/mLの範囲であるCytfectin（登録商標）濃度を得る。

【0397】

アンチセンスオリゴヌクレオチドを培養細胞中に導入するために使用される別の試薬には、Oligofectamine（商標）（Invitrogen Life Technologies（Carlsbad, CA））が含まれる。Opti-MEM（登録商標）1低血清培地（Invitrogen Life Technologies（Carlsbad, CA））中でアンチセンスオリゴヌクレオチドをOligofectamine（商標）と混合し、Oligofectamine（商標）のオリゴヌクレオチドに対する比が100nMにつき約0.2～0.8μLとなる、所望のオリゴヌクレオチド濃度を得る。

【0398】

アンチセンスオリゴヌクレオチドを培養細胞中に導入するために使用される別の試薬には、FuGENE6（Roche Diagnostics Corp.（Indianapolis, IN））が含まれる。1mLの無血清RPMI中でアンチセンスオリゴマー化合物をFuGENE6と混合し、FuGENE6のオリゴマー化合物に対する比が100nMにつき1～4μLのFuGENE6となる、所望のオリゴヌクレオチド濃度を得る。

【0399】

アンチセンスオリゴヌクレオチドを培養細胞中に導入するために使用される別の技法には、エレクトロポレーションが含まれる（Sambrook and Russell in Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Third Edition. Cold Spring Harbor laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York. 2001）。

【0400】

細胞を常法によってアンチセンスオリゴヌクレオチドで処理する。典型的には、アンチセンスオリゴヌクレオチド処理から16～24時間後に細胞を回収し、この時点で標的核

10

20

30

40

50

酸のRNAまたはタンパク質レベルを当該技術分野において周知の方法及び本明細書に記載される方法によって測定する (Sambrook and Russell in Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Third Edition. Cold Spring Harbor laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York. 2001)。一般に、処理を複数の反復試験で実施する場合、データは、反復処理の平均として表す。

【0401】

使用されるアンチセンスオリゴヌクレオチドの濃度は、細胞株ごとに異なる。特定の細胞株に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドの至適濃度を決定する方法は、当該技術分野においてよく知られている (Sambrook and Russell in Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Third Edition. Cold Spring Harbor laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York. 2001)。LIPOFECTAMINE 2000 (登録商標)、LipofectinまたはCytfectinを用いてトランスフェクトした場合、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、典型的に、1 nM～300 nMの範囲の濃度で使用する。エレクトロポレーションを用いてトランスフェクトした場合、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、625～20,000 nMの範囲のより高い濃度で使用する。

【0402】

RNA単離

RNA分析は、全細胞RNAまたはポリ(A)+mRNAに関して実施することができる。RNA単離法は、当該技術分野においてよく知られている (Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed., 2001)。RNAは、当該技術分野においてよく知られている方法を使用して、例えば、TRIzol (登録商標) 試薬 (Invitrogen (Carlsbad, CA)) を使用して、製造元の推奨プロトコルに従って、調製される。

【0403】

標的レベルまたは発現の阻害に関する分析

AGT核酸のレベルまたは発現の阻害は、当該技術分野において周知の様々な方法でアッセイすることができる (Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed., 2001)。例えば、標的核酸レベルは、例えば、ノーザンブロット分析、競合ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) または定量リアルタイムPCRによって定量することができる。RNA分析は、全細胞RNAまたはポリ(A)+mRNAに関して実施することができる。RNA単離法は、当該技術分野においてよく知られている。ノーザンブロット分析も当該技術分野において常法である。定量リアルタイムPCRは、市販のABI PRISM (登録商標) 7600、7700または7900 Sequence Detection System (PE-Applied Biosystems (Foster City, CA) から入手可能) を使用し、製造元の説明書に従って使用することにより、簡便に実施することができる。

【0404】

標的RNAレベルの定量リアルタイムPCR分析

標的RNAレベルの定量は、定量リアルタイムPCRにより、ABI PRISM (登録商標) 7600、7700または7900 Sequence Detection System (PE-Applied Biosystems (Foster City, CA)) を製造元の説明書に従って使用して、実施することができる。定量リアルタイムPCR法は、当該技術分野においてよく知られている。

【0405】

リアルタイムPCRの前に、単離したRNAを逆転写酵素（RT）反応に供して、相補的DNA（cDNA）を生成し、次いで、これをリアルタイムPCR増幅の基質として使用する。RT及びリアルタイムPCR反応は、同じサンプルウェルで順次実施される。RT及びリアルタイムPCRの試薬は、Invitrogen（Carlsbad, CA）から得られる。RT、リアルタイムPCRの反応は、当業者によく知られている方法によって実施する。

【0406】

リアルタイムPCRによって得られた遺伝子（またはRNA）標的の量は、シクロフィリンAなどの発現が一定である遺伝子の発現レベルを使用して正規化するか、RIBOGREEN（登録商標）（Invitrogen, Inc.（Carlsbad, CA））を使用して全RNAを定量することによって正規化する。シクロフィリンA発現は、リアルタイムPCRにより、標的と同時に、マルチプレックスに、または別個に実施することによって定量する。全RNAは、RIBOGREEN（登録商標）RNA定量試薬（Invitrogen, Inc（Eugene, OR））を使用して定量する。RIBOGREEN（登録商標）によるRNA定量法は、Jones, L. J. ら（Analytical Biochemistry, 1998, 265, 368-374）に教示されている。CYTOFLUOR（登録商標）4000機器（PE Applied Biosystems）を使用してRIBOGREEN（登録商標）蛍光を測定する。

【0407】

プローブ及びプライマーは、AGT核酸にハイブリダイズするように設計する。リアルタイムPCRのプローブ及びプライマーの設計法は、当該技術分野においてよく知られており、PRIMER EXPRESS（登録商標）ソフトウェア（Applied Biosystems（Foster City, CA））などのソフトウェアの使用を含み得る。

【0408】

タンパク質レベルの分析

AGT核酸のアンチセンス阻害は、AGTタンパク質レベルを測定することによって評価することができる。AGTのタンパク質レベルは、当該技術分野においてよく知られている様々な方法、例えば、免疫沈降法、ウェスタンブロット分析（免疫ブロット法）、酵素結合免疫吸着法（ELISA）、定量タンパク質アッセイ、タンパク質活性アッセイ（例えば、カスパーゼ活性アッセイ）、免疫組織化学法、免疫細胞化学法または蛍光標識細胞分取法（FACS）で評価または定量することができる（Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed., 2001）。標的に対する抗体は、種々の市販供給源から特定及び入手することもできるし、当該技術分野においてよく知られている従来のモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体作製法によって調製することもできる。

【0409】

アンチセンス化合物のin vivo試験

アンチセンス化合物、例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、AGTの発現を阻害する能力及び体内における高血圧の軽減などの表現型に変化をもたらす能力を評価するために動物で試験される。試験は、正常な動物または実験疾患モデルで実施することができる。動物に投与するために、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、滅菌注射用水またはリン酸緩衝生理食塩水などの薬学的に許容される希釈剤で製剤化される。投与には、腹腔内、静脈内及び皮下などの非経口投与経路が含まれる。アンチセンスオリゴヌクレオチドの用量及び投与頻度の算出は、投与経路及び動物の体重などの因子によって決まる。一実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置期間後、肝臓組織からRNAを単離し、AGT核酸発現における変化を測定する。AGTタンパク質レベルの変化は、直接測定することができる。AGT発現の変化は、RAAS経路の阻害レベルを決定することによって測定することもできる。AGT阻害のレベルを決定するためのマーカーとして、RAAS経路関連疾患、障害及び／または病態を使用することができる。

【0410】

特定の適応

本発明の特定の実施形態は、化合物、組成物、ならびに当該化合物及び組成物を使用してA G Tレベルを減少させる方法を提供する。特定の実施形態において、本発明は、化合物、組成物、ならびに当該化合物または組成物の治療上有効な量を対象に投与することを含む、当該化合物及び組成物を使用して対象を治療する方法を提供する。特定の実施形態において、対象は、R A A S経路関連疾患、障害または病態を有するか、そのリスクがある。特定の実施形態において、化合物または組成物は、アンチセンス化合物を含む。

【0411】

特定の実施形態において、A G T核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物の治療上有効な量の投与は、対象の血清または組織中A G Tレベルをモニターして、アンチセンス化合物に対する対象の応答を決定することを伴う。アンチセンス化合物の投与に対する対象の応答を使用して、医師は、治療介入の量及び継続期間を決定する。

10

【0412】

特定の実施形態において、A G T核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物の投与は、少なくとも15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、99%もしくは100%またはこれらの値のうちのいずれか2つによって定義される範囲のA G T発現の減少をもたらす。特定の実施形態において、A G T核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物の投与は、少なくとも15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、99%もしくは100%またはこれらの値のうちのいずれか2つによって定義される範囲のR A A S経路の阻害をもたらす。特定の実施形態において、A G T核酸に対して標的化されたアンチセンス化合物の投与は、R A A S経路関連疾患、障害、病態、症状またはマーカー（例えば、高血圧または器官障害）の変化をもたらす。特定の実施形態において、A G Tアンチセンス化合物の投与は、少なくとも15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、99%もしくは100%またはこれらの値のうちのいずれか2つによって定義される範囲の分、R A A S関連疾患、障害、病態、症状またはマーカーを増大または低減させる。

20

【0413】

特定の実施形態において、A G Tに対して標的化されたアンチセンス化合物を含む医薬組成物は、A G Tレベルを減少させるための薬剤の調製に使用される。特定の実施形態において、A G Tに対して標的化されたアンチセンス化合物を含む医薬組成物は、R A A S関連疾患、障害もしくは病態を患う患者、またはそれらに罹りやすい患者を治療するための薬剤の調製に使用される。

30

【0414】

特定の実施形態において、対象におけるA G Tレベルの減少は、疾患、病態または障害の治療、改善、予防、進行の遅延または発症の遅延をもたらす。特定の実施形態において、疾患、病態または障害は、寿命短縮、高血圧、高血圧緊急症（すなわち、悪性高血圧）、腎疾患（例えば、慢性腎疾患、多発性嚢胞腎疾患）、子癇前症、マルファン症候群、脳卒中、心疾患（例えば、心筋梗塞、心不全、鬱血性心不全、心臓弁膜症）、血管の動脈瘤、腹部動脈瘤、末梢動脈疾患、器官障害、肺動脈高血圧、肥満、メタボリックシンドローム、非アルコール性脂肪性肝炎（N A S H）、非アルコール性脂肪性肝疾患（N A F L D）ならびにR A A S関連疾患、障害及び／もしくは病態またはその症状である。特定の実施形態において、高血圧は、非治療抵抗性高血圧または治療抵抗性高血圧である。特定の実施形態において、血管の動脈瘤は、大動脈瘤である。特定の実施形態において、器官障害は、心筋肥大または器官もしくは組織の線維症である。特定の実施形態において、器官は、心臓、肝臓または腎臓であり、組織は、心臓、肝臓または腎臓に由来する。

40

【0415】

特定の実施形態において、対象におけるA G Tレベルの減少は、R A A S経路関連疾患

50

、障害または病態の治療、改善、予防、進行の遅延または発症の遅延をもたらす。特定の実施形態において、R A A S経路関連疾患、障害または病態は、寿命短縮、高血圧、高血圧緊急症（すなわち、悪性高血圧）、腎疾患（例えば、慢性腎疾患、多発性嚢胞腎疾患）、子癇前症、マルファン症候群、脳卒中、心疾患（例えば、心筋梗塞、心不全、鬱血性心不全、心臓弁膜症）、血管の動脈瘤、腹部動脈瘤、末梢動脈疾患、器官障害、肺動脈高血圧、肥満、メタボリックシンドローム、N A S H、N A F L Dならびに他のR A A S関連疾患、障害及び／もしくは病態またはその症状である。特定の実施形態において、高血圧は、非治療抵抗性高血圧または治療抵抗性高血圧である。特定の実施形態において、血管の動脈瘤は、大動脈瘤である。特定の実施形態において、器官障害は、心筋肥大または器官もしくは組織の線維症である。特定の実施形態において、器官は、心臓、肝臓または腎臓であり、組織は、心臓、肝臓または腎臓に由来する。

10

【0416】

特定の実施形態において、疾患、障害及び／または病態の症状またはマーカーを調節するための化合物、組成物及び方法が提供される。特定の実施形態において、マーカーは、寿命短縮、高血圧、高血圧緊急症（すなわち、悪性高血圧）、腎疾患（例えば、慢性腎疾患、多発性嚢胞腎疾患）、子癇前症、マルファン症候群、脳卒中、心疾患（例えば、心筋梗塞、心不全、鬱血性心不全、心臓弁膜症）、血管の動脈瘤、腹部動脈瘤、末梢動脈疾患、器官障害ならびに他のR A A S関連疾患、障害及び／もしくは病態またはその症状のうちの1つ以上から選択することができる。

【0417】

特定の併用療法

特定の実施形態において、本明細書で提供されるアンチセンス化合物を含む第1の剤は、1つ以上の第2の剤と共投与される。特定の実施形態において、アンチセンス化合物は、アンチセンスオリゴヌクレオチドである。特定の実施形態において、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、修飾オリゴヌクレオチドである。

20

【0418】

特定の実施形態において、かかる第2の剤は、本明細書に記載される第1の剤と同じR A A S経路関連疾患、障害または病態を治療するように設計される。特定の実施形態において、かかる第2の剤は、本明細書に記載される第1の剤と異なる疾患、障害または病態を治療するように設計される。特定の実施形態において、かかる第2の剤は、本明細書に記載される1つ以上の医薬組成物の好ましくない副作用を治療するように設計される。特定の実施形態において、かかる第1の剤は、第2の剤の好ましくない副作用を治療するように設計される。特定の実施形態において、第2の剤は、第1の剤の好ましくない副作用を治療するために、第1の剤と共投与される。特定の実施形態において、第2の剤は、第1の剤と共投与されて、併用または相加効果をもたらす。特定の実施形態において、第2の剤は、第1の剤と共投与されて、相乗効果をもたらす。

30

【0419】

特定の実施形態において、第1の剤と第2の剤の共投与は、これらの剤を独立した療法として投与する場合にその治療効果または予防効果を達成するのに必要な用量よりも低い用量での使用を可能にする。特定の実施形態において、共投与される第2の剤の用量は、第2の剤が単独で投与される場合に投与される用量と同じである。特定の実施形態において、共投与される第2の剤の用量は、第2の剤が単独で投与される場合に投与される用量よりも多い。

40

【0420】

特定の実施形態において、第1の剤及び1つ以上の第2の剤は、同時に投与される。特定の実施形態において、第1の剤及び1つ以上の第2の剤は、異なる時間に投与される。特定の実施形態において、第1の剤及び1つ以上の第2の剤は、単一の医薬製剤中に一緒に調製される。特定の実施形態において、第1の剤及び1つ以上の第2の剤は、個別に調製される。

【0421】

50

特定の実施形態において、第2の剤には、特定の高血圧を軽減させるための処置、食生活の改善、生活習慣の改善、抗線維化薬及び抗高血圧薬、例えば、R A A S阻害薬、エンドセリン受容体拮抗薬、ネプリライシン阻害薬、利尿薬、カルシウムチャネル拮抗薬、交感神経受容体遮断薬、交感神経作動薬及び血管拡張薬が含まれるが、これらに限定されない。

【0422】

高血圧を軽減させることができる処置の例には、腎デナベーション及び圧受容器活性化療法が挙げられるが、これらに限定されない。

【0423】

R A SまたはR A A S阻害薬の例には、A C E阻害薬（例えば、カプトプリル、エナラプリル、ホシノプリル、リシノプリル、ペリンドプリル、キナプリル、ラミプリル、トランドラプリル及びベナゼプリル）、アンジオテンシンI I受容体拮抗薬（例えば、カンデサルタン、エプロサルタン、イルベサルタン、ロサルタン、オルメサルタン、テルミサルタン及びバルサルタン）、レニン阻害薬（例えば、アリスキレン）、アルドステロン受容体拮抗薬（例えば、エプレレノン、スピロノラクトン及びフィネレノン）が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0424】

エンドセリン受容体拮抗薬の例には、アンブリセentan、シタキセentan、アトラセentan、B Q-123、ジボテンタン、ボセンタン、マシテンタン及びテゾセentanが挙げられる。

20

【0425】

ネプリライシン阻害薬の例にはサクビトリル及びオマパトリラトが挙げられる。

【0426】

利尿薬の例には、ループ利尿薬（例えば、ブメタニド、エタクリン酸、フロセミド、トラセミド）、チアジド利尿薬（例えば、エピチジド、ヒドロクロロチアジド、クロロチアジド及びベンドロフルメチアジド）、チアジド様利尿薬（例えば、インダパミド、クロルタリドン及びメトラゾン）及びカリウム保持性利尿薬（例えば、アミロライド、トリウムテレン及びスピロノラクトン）が挙げられる。

【0427】

カルシウムチャネル拮抗薬の例には、ジヒドロピリジン（例えば、アムロジピン、フェロジピン、イスラジピン、レルカニジピン、ニカルジピン、ニフェジピン、ニモジピン及びニトレンジピン）及び非ジヒドロピリジン（例えば、ジルチアゼム及びベラパミル）が挙げられる。

30

【0428】

交感神経受容体遮断薬の例には、ベータ遮断薬（例えば、アテノロール、メトプロロール、ナドロール、オクスプレノロール、ピンドロール、プロプラノロール及びチモロール）、アルファ遮断薬（例えば、ドキサゾシン、フェントラミン、インドラミン、フェノキシベンザミン、プラゾシン、テラゾシン及びトラゾリン）及びアルファ+ベータ混合遮断薬（例えば、ブシンドロール、カルベジロール及びラベタロール）が挙げられる。

【0429】

血管拡張薬の例には、ニトロプルシドナトリウム及びヒドララジンならびにその誘導体が挙げられる。交感神経作動薬の例には、 α -2作動薬（例えば、クロニジン、グアナベンズ、メチルドパ及びモキシソニジン）が挙げられる。抗高血圧薬の更なる例には、グアナチジン、レセルピンなどが挙げられる。

40

【0430】

第2の剤は、高血圧、器官障害などの疾患、障害及び／または病態を軽減するために、本明細書に記載される治療用化合物と組み合わせて使用することができる。

【0431】

特定の化合物

ヒトの治療法としての使用を改善する有益な特性を有する好ましいアンチセンス化合物

50

が本明細書の実施例において示される。簡潔性のため、好ましいアンチセンス化合物の選択に寄与する試験のみ記載する。参照を容易にするために、実施例の限定的な要約を以下に提供する。

【0432】

ヒトAGTを標的にするMOE含有及び／またはcEt含有ギャップマーモチーフを含むアンチセンス化合物を2000以上設計した。実施例1は、HepG2細胞で試験した2000以上の強力なアンチセンス化合物のヒトAGT mRNAに対する効果に関する代表的な単回投与阻害データを示す。

【0433】

in vitro単回投与で試験した2000以上のアンチセンス化合物のうち、用量依存的阻害試験で試験するために、160を超えるアンチセンス化合物を選択して、HepG2細胞における50%阻害濃度(IC₅₀)を決定した(実施例2)。

【0434】

in vitro用量反応試験に基づいて、実施例3の例示的試験に記載されるように、ヒトAGTトランスジェニック(huAGT tg)マウスにおける単回投与での効力及び忍容性の試験について、50以上のアンチセンス化合物を選択した。50以上のアンチセンス化合物のうち、huAGT tgマウスにおける用量反応及び忍容性試験のために、約14のアンチセンス化合物を更に選択した(実施例4)。

【0435】

huAGTマウスにおいて著しい効力及び忍容性を呈した9つのアンチセンス化合物を、更なる試験：粘度アッセイ(実施例5)；アンチセンス化合物の忍容性を評価するためのCD1マウス(実施例6)及びスプライングドローリーラット(実施例7)での試験；サルAGTを阻害する異種間効力を試験するためのサル肝細胞での試験(実施例8)；ならびに効力及び忍容性を評価するためのカニクイザルでの試験(実施例9)について選択した。実施例9に記載の試験におけるアンチセンス化合物は、カニクイザルで試験したが、カニクイザルAGT配列がアンチセンス化合物の配列との比較に利用できなかったため、アンチセンス化合物の配列は、近縁のアカゲザルの配列と比較した(実施例8)。

【0436】

9つのアンチセンス化合物の広範な特性評価に基づいて、アンチセンス化合物ISIS 654472(親化合物)の配列を更なる試験に選択した(実施例10)。親化合物ISIS 654472の配列を有するが、異なる化学修飾及びGalNAcコンジュゲートを有する、6つのアンチセンス化合物を設計した。新しく設計した6つの化合物をCD1マウス(実施例10)及びスプライングドローリーラット(実施例11)に投与して、これらの動物モデルにおける忍容性を試験した。6つのGalNAcコンジュゲート化アンチセンス化合物のうち、化合物ISIS 757456を選択してhuAGTマウスで試験し、親アンチセンス化合物ISIS 654472と比較した。ISIS 757456は、非コンジュゲート化合物ISIS 654472と比較して、8倍の効力改善を示した。

【0437】

したがって、治療薬としての使用に有益な任意の特徴を1つ以上有するアンチセンス化合物が本明細書で提供される。特定の実施形態において、配列番号1～6のいずれかから選択されるヌクレオチドの領域に対して標的化され、または当該領域に特異的にハイブリダイズすることができる本明細書に記載の修飾オリゴヌクレオチドを含む、アンチセンス化合物が本明細書で提供される。

【0438】

特定の実施形態において、本明細書に記載される特定のアンチセンス化合物は、AGT発現を阻害する効力があることから、有効である。特定の実施形態において、化合物または組成物は、AGTを少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%または少なくとも95%阻害する。

10

20

30

40

50

【0439】

特定の実施形態において、本明細書に記載される特定のアンチセンス化合物は、ヒト細胞、例えば、Hep3B細胞株で試験したとき、*in vitro*での IC_{50} が $20\mu M$ 未満、 $10\mu M$ 未満、 $8\mu M$ 未満、 $5\mu M$ 未満、 $2\mu M$ 未満、 $1\mu M$ 未満、 $0.9\mu M$ 未満、 $0.8\mu M$ 未満、 $0.7\mu M$ 未満、 $0.6\mu M$ 未満または $0.5\mu M$ 未満であることから、有効的である（実施例2に記載するとおり）。

【0440】

特定の実施形態において、本明細書に記載される特定のアンチセンス化合物は、実施例4に示すように、*in vivo*での50%有効量（ ED_{50} ）が $\leq 10\text{mpk/週}$ 、 $\leq 9\text{mpk/週}$ 、 $\leq 8\text{mpk/週}$ 、 $\leq 7\text{mpk/週}$ 、 $\leq 6\text{mpk/週}$ 、 $\leq 5\text{mpk/週}$ 、 $\leq 4\text{mpk/週}$ 、 $\leq 3\text{mpk/週}$ 、 $\leq 2\text{mpk/週}$ または $\leq 1\text{mpk/週}$ であることから、有効的である。特定の実施形態において、好ましいアンチセンス化合物、例えば、アンチセンス化合物ISIS757456は、実施例12に示すように、 $\leq 3\text{mpk/週}$ の ED_{50} を有する。

10

【0441】

特定の実施形態において、本明細書に記載される特定のアンチセンス化合物は、実施例5に記載されるように、 40cP 未満、 35cP 未満、 30cP 未満、 25cP 未満、 20cP 未満、 15cP 未満または 12cP 未満の粘度を有することから、有効である。 40cP を超える粘度を有するオリゴヌクレオチドは、至適粘度とは言えない。

【0442】

特定の実施形態において、本明細書に記載される特定のアンチセンス化合物は、実施例に記載の*in vivo*忍容性測定によって実証されるように、忍容性が高い。特定の実施形態において、本明細書に記載される特定のアンチセンス化合物は、生理食塩水で処置された動物に対して、3倍、2倍または1.5倍以下のALT値及び／またはAST値の増加を有することによって実証されるように、忍容性が高い。

20

【0443】

特定の実施形態において、本明細書に記載される特定のアンチセンス化合物は、トランスジェニックマウスにおける50%より大きい阻害効力、 $\leq 5\text{mpk/週}$ の ED_{50} 、 40cP 未満の粘度、ならびにALT及び／またはASTの3倍以下の増加のうちの1つ以上を有することから、有効である。

30

【0444】

特定の実施形態において、ISIS757456（配列番号1914）が好ましい。この化合物は、AGTトランスジェニックマウスにおいて強力な阻害物質であり、CD-1マウスにおいて非常に忍容性のあるアンチセンス化合物であることが判明した。マウスでは、生理食塩水で処置された動物に対して、ALT及び／またはASTレベルが3倍以下の増加であった。huAGTトランスジェニックマウスにおける ED_{50} は、 $\leq 3\text{mpk/週}$ であった。

【実施例】

【0445】

非限定的な開示と参照による援用

40

本明細書に記載される特定の化合物、組成物及び方法について、特定の実施形態に従って具体的に説明してきたが、以下の実施例は、本明細書に記載の化合物を例示するためにのみ提供するものであり、同化合物を限定するものではない。本出願で言及される参考文献のそれぞれは、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0446】

実施例1：HepG2細胞におけるヒトアンジオテンシノーゲン（AGT）のアンチセンス阻害

ヒトAGT核酸を標的にするアンチセンスオリゴヌクレオチドを2000以上設計し、その*in vitro*でのAGT mRNAに対する効果について、類似の培養条件を有する一連の実験で試験した。代表的なアンチセンスオリゴヌクレオチドの結果を以下の表

50

に示す。

【0447】

以下の表中の新しく設計されたキメラアンチセンスオリゴヌクレオチドは、MOE及び／またはcEt含有ギャップマーとして設計した。MOE含有オリゴヌクレオチドは、2'－デオキシヌクレオシドを含む中央ギャップセグメントを有し、中央ギャップセグメントには、5'方向及び3'方向にウイングセグメントが配されている。5'ウイングセグメント中の少なくとも1つのヌクレオシド及び／または3'ウイングセグメント中の1つのヌクレオシドが2'－MOE糖修飾を有する。cEt含有オリゴヌクレオチドは、2'－デオキシヌクレオシドを含む中央ギャップセグメントを有し、中央ギャップセグメントには、5'方向及び3'方向にウイングセグメントが配されている。5'ウイングセグメント中の少なくとも1つのヌクレオシド及び／または3'ウイングセグメント中の1つのヌクレオシドがcEt糖修飾を有する。いくつかの場合、MOEとcEtの両方を含有するようにオリゴヌクレオチドを設計した。MOE及びcEt含有オリゴヌクレオチドは、2'－デオキシヌクレオシドを含む中央ギャップセグメントを有し、中央ギャップセグメントには、5'方向及び3'方向にウイングセグメントが配されている。5'ウイングセグメント中の少なくとも1つのヌクレオシド及び／または3'ウイングセグメント中の1つのヌクレオシドがMOE及び／またはcEt糖修飾を有する。

10

【0448】

「化学的構造」の欄は、各オリゴヌクレオチドの糖修飾について記載する。「k」は、cEt糖修飾を示し、「d」は、デオキシリボースを示し、「e」は、MOE修飾を示す。各ギャップマー中のヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート（P=S）結合である。各ギャップマー中の全てのシトシン残基は、5－メチルシトシンである。

20

【0449】

「開始部位」は、ギャップマーが標的にするヒト遺伝子配列中の最も5'側のヌクレオシドを示す。「終止部位」は、ギャップマーが標的にするヒト遺伝子配列中の最も3'側のヌクレオシドを示す。以下の表に示される各ギャップマーは、本明細書において配列番号1として示されるヒトAGT mRNA（GENBANKアクセッション番号NM_000029.3）及び／または本明細書において配列番号2として示されるヒトAGTゲノム配列（GENBANKアクセッション番号NT_167186.1からヌクレオチド24354000～24370100を切り出したもの）のいずれかを標的にする。

30

【0450】

表1は、20,000細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して4500nMのアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトしたHepG2細胞中でのAGT mRNA阻害を示す。約24時間の処置期間後、RNAを細胞から単離し、AGT mRNAレベルを定量リアルタイムPCRによって測定した。ヒトプライマープロブセットRTS3721（本明細書において配列番号8として示されるフォワード配列CCCTGATGGGAGCCAGTGT；本明細書において配列番号9として示されるリバーズ配列AGCAGGGAGAGAGCCCTTCA；及び本明細書において配列番号10として示されるプロブ配列CCCTGGCTTTTCAACACCTACGTC CACTX（配列中、Xは蛍光標識である）を使用してmRNAレベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定した全RNA含量に従ってAGT mRNAレベルを調整した。無処置の対照細胞に対するAGTの阻害率（％）として結果を示す。

40

【0451】

【表 2 - 1】

表 1

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする M O E 及び／または c E t 含有ギャップマーによる A G T m R N A 阻害

ISIS 番号	配列 番号 1 開 始部 位	配列 番号 1 終 止部 位	配列	化学的構造	阻害率 (%)	配列 番号 2 開 始部 位	配列 番号 2: 終 止部 位	配列 番号
568518	1	16	TGCCCCGCTCATGGGAT	eeekdddddiddiddkke	26	1986	2001	14
568519	20	35	GGGCCACTTCTGACCC	eeekdddddiddiddkke	34	2005	2020	15
568520	35	50	GCTTAGGCAACACGGG	eeekdddddiddiddkke	20	2020	2035	16
568521	45	60	GGAGAGTCTTGCTTAG	eeekdddddiddiddkke	26	2030	2045	17
568522	80	95	CATGCAGGCCGGAGGT	eeekdddddiddiddkke	25	2065	2080	18
568523	90	105	GCCACAGGGACATGCA	eeekdddddiddiddkke	30	2075	2090	19
568524	122	137	TGACCCAGCCCCGGGA	eeekdddddiddiddkke	40	2107	2122	20
568525	155	170	TGTGACAGCCTGAGGC	eeekdddddiddiddkke	25	2140	2155	21
568526	165	180	TCCCTAGGTGTGTGAC	eeekdddddiddiddkke	34	2150	2165	22
568527	179	194	GAAACGGGAGCATCTC	eeekdddddiddiddkke	9	2164	2179	23
568528	189	204	AAGGTTCCCAGAAACG	eeekdddddiddiddkke	19	2174	2189	24
568529	209	224	AGTTTGCAGGAGTCCG	eeekdddddiddiddkke	26	2194	2209	25
568530	229	244	TCGAGTTACACATTTA	eeekdddddiddiddkke	24	2214	2229	26
568531	248	263	AGAGTGAGCCGGTGCA	eeekdddddiddiddkke	21	2233	2248	27
568532	258	273	ACTGCTGAACAGAGTG	eeekdddddiddiddkke	19	2243	2258	28
568533	268	283	GCAGAGTTTCACTGCT	eeekdddddiddiddkke	16	2253	2268	29
568534	278	293	AGTGATCGATGCAGAG	eeekdddddiddiddkke	32	2263	2278	30
568535	288	303	AGGAAGTCTTAGTGAT	eeekdddddiddiddkke	15	2273	2288	31
568536	301	316	TGGGACCTCTTCCAGG	eeekdddddiddiddkke	31	2286	2301	32
568537	353	368	GGCCAGACCACAGGCT	eeekdddddiddiddkke	16	2338	2353	33
568538	363	378	TACATCACTTGGCCAG	eeekdddddiddiddkke	30	2348	2363	34
568539	373	388	AGAGGAGGGTTACATC	eeekdddddiddiddkke	24	2358	2373	35
568540	386	401	GTGCACAGGCTGGAGA	eeekdddddiddiddkke	43	2371	2386	36
568541	431	446	TATTTATAGCTGAGGG	eeekdddddiddiddkke	29	2416	2431	37
568542	441	456	CACGATGCCCTATTTA	eeekdddddiddiddkke	34	2426	2441	38
568543	478	493	TACCCAGAACAACGGC	eeekdddddiddiddkke	28	2463	2478	39
568544	525	540	GCCATCTCAGACTGGG	eeekdddddiddiddkke	69	5742	5757	40
568545	535	550	ACCGGCAGGAGCCATC	eeekdddddiddiddkke	42	5752	5767	41
568546	545	560	TCAGGCTCACACCGGC	eeekdddddiddiddkke	67	5762	5777	42
568547	555	570	ATGGTGGCCCTCAGGC	eeekdddddiddiddkke	39	5772	5787	43
568548	596	611	GGTCACCTGCAGCCAG	eeekdddddiddiddkke	59	5813	5828	44
568549	606	621	ATGTACACCCGGTCAC	eeekdddddiddiddkke	25	5823	5838	45

【 0 4 5 2 】

【表 2 - 2】

568550	643	658	GGTACTCTCATTGTGG	eekddddddddddkke	76	5860	5875	46
568551	654	669	AGCTGCTCACAGGTAC	eekddddddddddkke	60	5871	5886	47
568552	676	691	CTTCCCGGCATTGGCC	eekddddddddddkke	50	5893	5908	48
568553	703	718	AGCAGGTATGAAGGTG	eekddddddddddkke	62	5920	5935	49
568554	713	728	CCTGAATTGGAGCAGG	eekddddddddddkke	43	5930	5945	50
568555	723	738	GATGTCTTGGCCTGAA	eekddddddddddkke	21	5940	5955	51
568556	739	754	CTTTTCATCCACAGGG	eekddddddddddkke	39	5956	5971	52
568557	762	777	AGCACCCAGCTGGTCTT	eekddddddddddkke	71	5979	5994	53
568558	772	787	TGCAGCGACTAGCACC	eekddddddddddkke	71	5989	6004	54
568559	782	797	TGTCAAGTTTTGCAGC	eekddddddddddkke	61	5999	6014	55
568560	803	818	CGGCCCTCAACTTGTC	eekddddddddddkke	45	6020	6035	56
568561	815	830	TCCCGACCATTGCGGC	eekddddddddddkke	25	6032	6047	57
568562	825	840	TTGGCCAGCATCCCGA	eekddddddddddkke	51	6042	6057	58
568563	835	850	GCCCCAAGAAGTTGGCC	eekddddddddddkke	13	6052	6067	59
568564	845	860	ATATACGGAAGCCCAA	eekddddddddddkke	52	6062	6077	60
568565	855	870	TGCATGCCATATATAC	eekddddddddddkke	64	6072	6087	61
568566	871	886	GCCCCATAGCTCACTG	eekddddddddddkke	64	6088	6103	62
568567	886	901	GGCCCCATGGACCACG	eekddddddddddkke	38	6103	6118	63
568568	913	928	AAAGACAGCCGTTGGG	eekddddddddddkke	58	6130	6145	64
568569	923	938	CCAGGGTGCCAAAGAC	eekddddddddddkke	36	6140	6155	65
568570	937	952	CAGATAGAGAGAGGCC	eekddddddddddkke	59	6154	6169	66
568571	954	969	GTGTGGTCCAAGGCTC	eekddddddddddkke	37	6171	6186	67
568572	983	998	CACCCAGGATTGCCCTG	eekddddddddddkke	72	6200	6215	68
568573	993	1008	TTCCAAGGAACACCCA	eekddddddddddkke	35	6210	6225	69
568574	1017	1032	AGCCGGGAGGTGCAGT	eekddddddddddkke	53	6234	6249	70
568575	1020	1035	TCCAGCCGGGAGGTGC	eekddddddddddkke	62	6237	6252	71
568576	1053	1068	ACAGCCTGCAGGGCAG	eekddddddddddkke	47	6270	6285	72
568577	1070	1085	CCACTAGCAGGCCCTG	eekddddddddddkke	33	6287	6302	73
568578	1088	1103	TATCAGCCCTGCCCTG	eekddddddddddkke	37	6305	6320	74
568579	1098	1113	TGGGCCTGGCTATCAG	eekddddddddddkke	42	6315	6330	75
568580	1114	1129	CGTGGACAGCAGCAGC	eekddddddddddkke	70	6331	6346	76
568581	1131	1146	GTGAACACGCCACCA	eekddddddddddkke	48	6348	6363	77
568582	1151	1166	TCAGGTGCAGGCCTGG	eekddddddddddkke	36	6368	6383	78
568583	1171	1186	GCCCTGCACAAACGGC	eekddddddddddkke	16	6388	6403	79
568584	1182	1197	TAGAGAGCCAGGCCCT	eekddddddddddkke	52	6399	6414	80
568585	1203	1218	CGTGGGAGGACCACAG	eekddddddddddkke	47	6420	6435	81
568586	1217	1232	TGAAGTCCAGAGAGCG	eekddddddddddkke	60	6434	6449	82
568587	1233	1248	GCAACATCCAGTTCTG	eekddddddddddkke	50	6450	6465	83
568588	1244	1259	TCTTCTCAGCAGCAAC	eekddddddddddkke	54	6461	6476	84
568589	1272	1287	CCTGTACAGCCTGCA	eekddddddddddkke	77	6489	6504	85
568590	1278	1293	TTCCATCCTGTCACAG	eekddddddddddkke	51	6495	6510	86

【 0 4 5 3 】

10

20

30

40

【表 2 - 3】

568595	1403	1418	TGTCCACCCAGAACTC	eeekddddd	33	10414	10429	87
568596	1406	1421	TGTTGTCCACCCAGAA	eeekddddd	59	10417	10432	88
568597	1409	1424	TGCTGTTGTCCACCCA	eeekddddd	60	10420	10435	89
568598	1412	1427	AGGTGCTGTTGTCCAC	eeekddddd	57	10423	10438	90
568599	1415	1430	CTGAGGTGCTGTTGTC	eeekddddd	56	10426	10441	91
568600	1418	1433	ACACTGAGGTGCTGTT	eeekddddd	28	10429	10444	92
568601	1421	1436	CAGACACTGAGGTGCT	eeekddddd	67	10432	10447	93
568602	1431	1446	AGCATGGGAACAGACA	eeekddddd	27	10442	10457	94
568603	1443	1458	CCCATGCCAGAGAGCA	eeekddddd	30	10454	10469	95
568604	1462	1477	ACTCCAGTGCTGGAAG	eeekddddd	41	10473	10488	96
568605	1465	1480	GTCACCTCCAGTGCTGG	eeekddddd	73	10476	10491	97
568606	1474	1489	GTCCTGGATGTCACCTC	eeekddddd	68	10485	10500	98
568607	1484	1499	CCGAGAAGTTGTCTCTG	eeekddddd	47	10495	10510	99
568608	1494	1509	ACTTGAGTCACCGAGA	eeekddddd	39	10505	10520	100
568609	1504	1519	AGTGAAGGGCACTTGA	eeekddddd	28	10515	10530	101
568610	1531	1546	CTGGATCAGCAGCAGG	eeekddddd	69	10542	10557	102
568611	1550	1565	GGTCAGAGGCATAGTG	eeekddddd	43	10561	10576	103
568612	1578	1593	TGGAAAGTGAGACCCT	eeekddddd	45	10589	10604	104
568613	1588	1603	GGAGTTTTGCTGGAAA	eeekddddd	53	10599	10614	105
568614	1598	1613	TCCAGTTGAGGGAGTT	eeekddddd	38	10609	10624	106
568615	1614	1629	GGAGATAGTTTCTTCA	eeekddddd	24	10625	10640	107
568616	1631	1646	TCAGGTGGATGGTCCG	eeekddddd	34	N/A	N/A	108
568617	1653	1668	TGCAGCACCAAGTTGGG	eeekddddd	65	12259	12274	109
568618	1663	1678	ATAAGATCCTTGACAGC	eeekddddd	21	12269	12284	110
568619	1680	1695	AGCAGGTCCTGCAGGT	eeekddddd	50	12286	12301	111
568620	1700	1715	CGGGCAGCTCAGCCTG	eeekddddd	39	12306	12321	112
568621	1710	1725	TGCAGAATGGCGGGCA	eeekddddd	57	12316	12331	113
568622	1720	1735	CAGCTCGGTGTGCAGA	eeekddddd	70	12326	12341	114
568623	1730	1745	TTTGCAGGTTTCAGCTC	eeekddddd	44	12336	12351	115
568624	1745	1760	GGTCATTGCTCAATTT	eeekddddd	45	12351	12366	116
568625	1755	1770	ACCTGATGCGGTCAT	eeekddddd	43	12361	12376	117
568626	1794	1809	GCTTCAAGCTCAAAAA	eeekddddd	56	13263	13278	118
568627	1827	1842	TGTTGGGTAGACTCTG	eeekddddd	61	13296	13311	119
568628	1841	1856	CAGGCTTGTTAAGCTG	eeekddddd	53	13310	13325	120
568629	1851	1866	TCCAAGACCTCAGGCT	eeekddddd	46	13320	13335	121
568630	1875	1890	AGGAATGGGCGGTTCA	eeekddddd	58	13344	13359	122
568631	1923	1938	CGGCCAGGAAGTGCA	eeekddddd	30	13392	13407	123
568632	1933	1948	GTTGCCACGCGGCC	eeekddddd	11	13402	13417	124
568633	1943	1958	TGCTCAGCGGGTTGGC	eeekddddd	49	13412	13427	125
568634	1961	1976	GGCCTGGCCTCATGC	eeekddddd	44	13430	13445	126
568635	1986	2001	GGCCTGCCAGGCACT	eeekddddd	86	13455	13470	127

【 0 4 5 4 】

【表 2 - 4】

568636	2007	2022	GCCTCAAAGGCCAGGG	eeekddddddekkke	49	13476	13491	128
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekddddddekkke	92	13515	13530	129
568638	2056	2071	GGTGACACATCGCTGA	eeekddddddekkke	86	13525	13540	130
568639	2075	2090	GAAAAGGTGGGAGACT	eeekddddddekkke	39	13544	13559	131
568640	2088	2103	CGACTCATTAGAAGAA	eeekddddddekkke	87	13557	13572	132
568641	2111	2126	ACGGCTGCTTTCCAGC	eeekddddddekkke	64	13580	13595	133
568642	2121	2136	CCAAGGAGAAACGGCT	eeekddddddekkke	79	13590	13605	134
568643	2131	2146	CACACTTAGACCAAGG	eeekddddddekkke	78	13600	13615	135
568644	2166	2181	TGCCGCTGCAGGCTTC	eeekddddddekkke	57	13635	13650	136
568645	2176	2191	GGTGCATTTGTGCCGC	eeekddddddekkke	75	13645	13660	137
568646	2274	2289	TGGTCGGTTGGAATTC	eeekddddddekkke	77	13743	13758	138
568647	2284	2299	ACAAACAAGCTGGTCG	eeekddddddekkke	84	13753	13768	139
568648	2311	2326	CTTGAAAAGGGAACAC	eeekddddddekkke	62	13780	13795	140
568649	2331	2346	AACCCAATTTTGTTC	eeekddddddekkke	56	13800	13815	141
568650	2362	2377	GGCAATGCAAAAATGT	eeekddddddekkke	78	13831	13846	142
568651	2391	2406	TACATTCAAGACACTA	eeekddddddekkke	60	13860	13875	143
568652	2402	2417	GGTCATGTTCTTACAT	eeekddddddekkke	55	13871	13886	144
568653	2412	2427	ACTACACGGAGGTCAT	eeekddddddekkke	55	13881	13896	145
568654	2422	2437	TATTACAGACACTACA	eeekddddddekkke	35	13891	13906	146
568655	2482	2497	GGTGCTTGCATCTTTC	eeekddddddekkke	58	13951	13966	147
568656	2492	2507	CAGAAATTCAGGTGCT	eeekddddddekkke	47	13961	13976	148
568657	2503	2518	CCGCATTCAAACAGAA	eeekddddddekkke	38	13972	13987	149
568658	2513	2528	AGCTATGGTTCGCAT	eeekddddddekkke	55	13982	13997	150
568659	2537	2552	TACTAACACAAGGGAG	eeekddddddekkke	37	14006	14021	151
568660	2558	2573	TTATTGTGGCAAGACG	eeekddddddekkke	48	14027	14042	152
568661	N/A	N/A	TTACTAATACAGCCCA	eeekddddddekkke	31	3322	3337	153
568662	N/A	N/A	GGTTTCCCTGATGCAG	eeekddddddekkke	34	3516	3531	154
568663	N/A	N/A	TGATAGTTGGATTCTT	eeekddddddekkke	21	4783	4798	155
568664	N/A	N/A	TGTGGTCCCAACATGC	eeekddddddekkke	41	4944	4959	156
568665	N/A	N/A	TTGAAGTCCTCAACCC	eeekddddddekkke	26	5460	5475	157
568670	N/A	N/A	CTCTTGATGTCACAG	eeekddddddekkke	56	10997	11012	158
568671	N/A	N/A	GATGGCAAATTTTGTT	eeekddddddekkke	23	11321	11336	159
568672	N/A	N/A	TGTGTTACTTGGGTAA	eeekddddddekkke	68	11933	11948	160
568673	N/A	N/A	GCCACACAGTGAGGGC	eeekddddddekkke	22	12189	12204	161

【0455】

表 2 は、更なるギャップマーオリゴヌクレオチドによる A G T mRNA 阻害率 (%) を示す。約 20,000 細胞/ウェルの密度で培養した H e p G 2 細胞に、エレクトロポレーションを使用して、4,000 nM のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした。約 24 時間の処置期間後、RNA を細胞から単離し、A G T mRNA レベルを定量リアルタイム PCR によって測定した。ヒトプライマープローブセット R T S 3721 を使用して mRNA レベルを測定した。R I B O G R E E N (登録商標) によって測定した全 RNA 含量に従って A G T mRNA レベルを調整した。無処置の対照細胞に対する A G T の阻害率 (%) として結果を示す。

【0456】

10

20

30

40

【表 3 - 1】

表 2

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする M O E 及び／または c E t 含有ギャップマーによる A G T m R N A 阻害

ISIS 番号	配 列 番 号 1 開 始 部 位	配 列 番 号 1 終 止 部 位	配 列	化 学 的 構 造	阻 害 率 (%)	配 列 番 号 2 開 始 部 位	配 列 番 号 2: 終 止 部 位	配 列 番 号
56863 7	204 6	206 1	CGCTGATTTGTCCG GG	eeekddddddddd ke	92	13515	13530	12 9
56863 7	204 6	206 1	CGCTGATTTGTCCG GG	eeekddddddddd ke	91	13515	13530	12 9
56863 7	204 6	206 1	CGCTGATTTGTCCG GG	eeekddddddddd ke	97	13515	13530	12 9
56863 7	204 6	206 1	CGCTGATTTGTCCG GG	eeekddddddddd ke	94	13515	13530	12 9
56863 7	204 6	206 1	CGCTGATTTGTCCG GG	eeekddddddddd ke	92	13515	13530	12 9
56863 8	205 6	207 1	GGTGACACATCGCT GA	eeekddddddddd ke	82	13525	13540	13 0
59462 1	202 2	203 7	CTGCTGCTGGCCTT TG	kkkddddddddd kk	87	13491	13506	16 2
59462 2	202 7	204 2	GTTATCTGCTGCTG GC	kkkddddddddd kk	97	13496	13511	16 3
59462 2	202 7	204 2	GTTATCTGCTGCTG GC	kkkddddddddd kk	99	13496	13511	16 3
59462 3	203 2	204 7	GGTTGTTATCTGC TG	kkkddddddddd kk	90	13501	13516	16 4
59462 4	204 6	206 1	CGCTGATTTGTCCG GG	kkkddddddddd kk	94	13515	13530	12 9
59462 5	204 7	206 2	TCGCTGATTTGTCC GG	kkkddddddddd kk	91	13516	13531	16 5
59462 5	204 7	206 2	TCGCTGATTTGTCC GG	kkkddddddddd kk	97	13516	13531	16 5
59462 6	204 9	206 4	CATCGCTGATTTGT CC	kkkddddddddd kk	0	13518	13533	16 6
59462 7	205 3	206 8	GACACATCGCTGAT TT	kkkddddddddd kk	92	13522	13537	16 7
59462 8	207 3	208 8	AAAGGTGGGAGACT GG	kkkddddddddd kk	81	13542	13557	16 8
59462 9	208 2	209 7	ATTAGAAGAAAAGG TG	kkkddddddddd kk	84	13551	13566	16 9

【 0 4 5 7 】

【表 3 - 2】

59463 0	209 0	210 5	GTCGACTCATTAGA AG	kkkddddddddd kk	79	13559	13574	17 0
59463 1	209 5	211 0	TCAAAGTCGACTCA TT	kkkddddddddd kk	91	13564	13579	17 1
59463 2	209 9	211 4	CAGCTCAAAGTCGA CT	kkkddddddddd kk	96	13568	13583	17 2
59464 1	202 2	203 7	CTGCTGCTGGCCTT TG	eekddddddddd ke	61	13491	13506	16 2
59464 2	202 7	204 2	GTTATCTGCTGCTG GC	eekddddddddd ke	91	13496	13511	16 3
59464 3	203 2	204 7	GGGTTGTTATCTGC TG	eekddddddddd ke	91	13501	13516	16 4
59464 4	204 7	206 2	TCGCTGATTGTGCC GG	eekddddddddd ke	87	13516	13531	16 5
59464 5	204 9	206 4	CATCGCTGATTGT CC	eekddddddddd ke	79	13518	13533	16 6
59464 6	205 3	206 8	GACACATCGCTGAT TT	eekddddddddd ke	80	13522	13537	16 7
59464 7	207 3	208 8	AAAGGTGGGAGACT GG	eekddddddddd ke	62	13542	13557	16 8
60907 8	202 0	203 5	GCTGCTGGCCTTTG CC	kkkddddddddd kk	73	13489	13504	17 3
60907 9	202 1	203 6	TGCTGCTGGCCTTT GC	kkkddddddddd kk	69	13490	13505	17 4
60908 0	202 3	203 8	TCTGCTGCTGGCCT TT	kkkddddddddd kk	91	13492	13507	17 5
60908 1	202 4	203 9	ATCTGCTGCTGGCC TT	kkkddddddddd kk	90	13493	13508	17 6
60908 2	202 5	204 0	TATCTGCTGCTGGC CT	kkkddddddddd kk	84	13494	13509	17 7
60908 3	202 6	204 1	TTATCTGCTGCTGG CC	kkkddddddddd kk	91	13495	13510	17 8
60908 4	202 8	204 3	TGTTATCTGCTGCT GG	kkkddddddddd kk	89	13497	13512	17 9
60908 5	202 9	204 4	TTGTTATCTGCTGC TG	kkkddddddddd kk	91	13498	13513	18 0
60908 6	203 0	204 5	GTTGTTATCTGCTG CT	kkkddddddddd kk	98	13499	13514	18 1
60908 7	203 1	204 6	GGTTGTTATCTGCT GC	kkkddddddddd kk	97	13500	13515	18 2
60908 8	204 8	206 3	ATCGCTGATTGTGC CG	kkkddddddddd kk	98	13517	13532	18 3
60908 9	205 0	206 5	ACATCGCTGATTGT TC	kkkddddddddd kk	92	13519	13534	18 4
60909 0	205 1	206 6	CACATCGCTGATTT GT	kkkddddddddd kk	91	13520	13535	18 5

【 0 4 5 8 】

10

20

30

40

【表 3 - 3】

60909 1	205 2	206 7	ACACATCGCTGATT TG	kkkddddddddddk kk	96	13521	13536	18 6
60909 2	205 4	206 9	TGACACATCGCTGA TT	kkkddddddddddk kk	34	13523	13538	18 7
60909 3	205 5	207 0	GTGACACATCGCTG AT	kkkddddddddddk kk	78	13524	13539	18 8
60909 4	205 6	207 1	GGTGACACATCGCT GA	kkkddddddddddk kk	93	13525	13540	13 0
60909 5	205 7	207 2	GGGTGACACATCGC TG	kkkddddddddddk kk	96	13526	13541	18 9
60909 6	207 4	208 9	AAAAGGTGGGAGAC TG	kkkddddddddddk kk	70	13543	13558	19 0
60909 7	207 5	209 0	GAAAAGGTGGGAGA CT	kkkddddddddddk kk	80	13544	13559	13 1
60909 8	207 6	209 1	AGAAAAGGTGGGAG AC	kkkddddddddddk kk	85	13545	13560	19 1
60909 9	208 0	209 5	TAGAAGAAAAGGTG GG	kkkddddddddddk kk	90	13549	13564	19 2
60910 0	208 1	209 6	TTAGAAGAAAAGGT GG	kkkddddddddddk kk	95	13550	13565	19 3
60910 1	208 3	209 8	CATTAGAAGAAAAG GT	kkkddddddddddk kk	76	13552	13567	19 4
60910 2	208 4	209 9	TCATTAGAAGAAAA GG	kkkddddddddddk kk	97	13553	13568	19 5
60910 3	208 5	210 0	CTCATTAGAAGAAA AG	kkkddddddddddk kk	87	13554	13569	19 6
60910 4	208 6	210 1	ACTCATTAGAAGAA AA	kkkddddddddddk kk	70	13555	13570	19 7
60910 5	208 7	210 2	GACTCATTAGAAGA AA	kkkddddddddddk kk	93	13556	13571	19 8
60910 6	208 8	210 3	CGACTCATTAGAAG AA	kkkddddddddddk kk	98	13557	13572	13 2
60910 7	208 9	210 4	TCGACTCATTAGAA GA	kkkddddddddddk kk	97	13558	13573	19 9
60910 8	209 1	210 6	AGTCGACTCATTAG AA	kkkddddddddddk kk	97	13560	13575	20 0
60910 9	209 2	210 7	AAGTCGACTCATTA GA	kkkddddddddddk kk	96	13561	13576	20 1
60911 0	209 3	210 8	AAAGTCGACTCATT AG	kkkddddddddddk kk	96	13562	13577	20 2
60911 1	209 4	210 9	CAAAGTCGACTCAT TA	kkkddddddddddk kk	92	13563	13578	20 3
60911 2	209 6	211 1	CTCAAAGTCGACTC AT	kkkddddddddddk kk	93	13565	13580	20 4
60911 3	209 7	211 2	GCTCAAAGTCGACT CA	kkkddddddddddk kk	97	13566	13581	20 5

【 0 4 5 9 】

10

20

30

40

【表 3 - 4】

60911 4	209 8	211 3	AGCTCAAAGTCGAC TC	kkkddddddddd kk	95	13567	13582	20 6
60911 5	202 0	203 5	GCTGCTGGCCTTTG CC	eekddddddddd ke	71	13489	13504	17 3
60911 6	202 1	203 6	TGCTGCTGGCCTTT GC	eekddddddddd ke	47	13490	13505	17 4
60911 7	202 3	203 8	TCTGCTGCTGGCCT TT	eekddddddddd ke	74	13492	13507	17 5
60911 8	202 4	203 9	ATCTGCTGCTGGCC TT	eekddddddddd ke	81	13493	13508	17 6
60911 9	202 5	204 0	TATCTGCTGCTGGC CT	eekddddddddd ke	76	13494	13509	17 7
60912 0	202 6	204 1	TTATCTGCTGCTGG CC	eekddddddddd ke	56	13495	13510	17 8
60912 1	202 8	204 3	TGTTATCTGCTGCT GG	eekddddddddd ke	73	13497	13512	17 9
60912 2	202 9	204 4	TTGTTATCTGCTGC TG	eekddddddddd ke	87	13498	13513	18 0
60912 3	203 0	204 5	GTTGTTATCTGCTG CT	eekddddddddd ke	92	13499	13514	18 1
60912 4	203 1	204 6	GGTTGTTATCTGCT GC	eekddddddddd ke	90	13500	13515	18 2
60912 5	204 8	206 3	ATCGCTGATTGTC CG	eekddddddddd ke	91	13517	13532	18 3
60912 6	205 0	206 5	ACATCGCTGATTTG TC	eekddddddddd ke	66	13519	13534	18 4
60912 7	205 1	206 6	CACATCGCTGATTT GT	eekddddddddd ke	79	13520	13535	18 5
60912 8	205 2	206 7	ACACATCGCTGATT TG	eekddddddddd ke	72	13521	13536	18 6
60912 9	205 4	206 9	TGACACATCGCTGA TT	eekddddddddd ke	60	13523	13538	18 7
60913 0	205 5	207 0	GTGACACATCGCTG AT	eekddddddddd ke	77	13524	13539	18 8
60913 1	205 7	207 2	GGGTGACACATCGC TG	eekddddddddd ke	85	13526	13541	18 9
60913 2	202 0	203 5	GCTGCTGGCCTTTG CC	eekkkddddddk ee	47	13489	13504	17 3
60913 3	202 1	203 6	TGCTGCTGGCCTTT GC	eekkkddddddk ee	44	13490	13505	17 4
60913 4	202 2	203 7	CTGCTGCTGGCCTT TG	eekkkddddddk ee	62	13491	13506	16 2
60913 5	202 3	203 8	TCTGCTGCTGGCCT TT	eekkkddddddk ee	59	13492	13507	17 5
60913 6	202 4	203 9	ATCTGCTGCTGGCC TT	eekkkddddddk ee	70	13493	13508	17 6

【 0 4 6 0 】

10

20

30

40

【表 3 - 5】

60913 7	202 5	204 0	TATCTGCTGCTGGC CT	eekkkdddddskke ee	59	13494	13509	17 7
60913 8	202 6	204 1	TTATCTGCTGCTGG CC	eekkkdddddskke ee	78	13495	13510	17 8
60913 9	202 7	204 2	GTTATCTGCTGCTG GC	eekkkdddddskke ee	79	13496	13511	16 3
60914 0	202 8	204 3	TGTTATCTGCTGCT GG	eekkkdddddskke ee	83	13497	13512	17 9
60914 1	202 9	204 4	TTGTTATCTGCTGC TG	eekkkdddddskke ee	67	13498	13513	18 0
60914 2	203 0	204 5	GTTGTTATCTGCTG CT	eekkkdddddskke ee	68	13499	13514	18 1
60914 3	203 1	204 6	GGTTGTTATCTGCT GC	eekkkdddddskke ee	81	13500	13515	18 2
60914 4	203 2	204 7	GGGTTGTTATCTGC TG	eekkkdddddskke ee	81	13501	13516	16 4
60914 5	204 6	206 1	CGCTGATTTGTCCG GG	eekkkdddddskke ee	53	13515	13530	12 9
60914 6	204 7	206 2	TCGCTGATTTGTCC GG	eekkkdddddskke ee	80	13516	13531	16 5
60914 7	204 8	206 3	ATCGCTGATTTGTC CG	eekkkdddddskke ee	88	13517	13532	18 3
60914 8	204 9	206 4	CATCGCTGATTTGT CC	eekkkdddddskke ee	75	13518	13533	16 6
60914 9	205 0	206 5	ACATCGCTGATTTG TC	eekkkdddddskke ee	64	13519	13534	18 4
60915 0	205 1	206 6	CACATCGCTGATTT GT	eekkkdddddskke ee	77	13520	13535	18 5
60915 1	205 2	206 7	ACACATCGCTGATT TG	eekkkdddddskke ee	57	13521	13536	18 6
60915 2	205 3	206 8	GACACATCGCTGAT TT	eekkkdddddskke ee	52	13522	13537	16 7
60915 3	205 4	206 9	TGACACATCGCTGA TT	eekkkdddddskke ee	37	13523	13538	18 7
60915 4	205 5	207 0	GTGACACATCGCTG AT	eekkkdddddskke ee	50	13524	13539	18 8
60915 5	205 6	207 1	GGTGACACATCGCT GA	eekkkdddddskke ee	60	13525	13540	13 0
60915 6	205 7	207 2	GGGTGACACATCGC TG	eekkkdddddskke ee	54	13526	13541	18 9
60915 7	207 3	208 8	AAAGGTGGGAGACT GG	eekkkdddddskke ee	40	13542	13557	16 8
60915 8	202 0	203 5	GCTGCTGGCCTTTG CC	eekkkdddddskk ee	77	13489	13504	17 3
60915 9	202 1	203 6	TGCTGCTGGCCTTT GC	eekkkdddddskk ee	85	13490	13505	17 4

【 0 4 6 1 】

【表 3 - 6】

60916 0	202 2	203 7	CTGCTGCTGGCCTT TG	eekkkkkkkkkkk ee	81	13491	13506	16 2
60916 1	202 3	203 8	TCTGCTGCTGGCCT TT	eekkkkkkkkkkk ee	91	13492	13507	17 5
60916 2	202 4	203 9	ATCTGCTGCTGGCC TT	eekkkkkkkkkkk ee	92	13493	13508	17 6
60916 3	202 5	204 0	TATCTGCTGCTGGC CT	eekkkkkkkkkkk ee	83	13494	13509	17 7
60916 4	202 6	204 1	TTATCTGCTGCTGG CC	eekkkkkkkkkkk ee	93	13495	13510	17 8
60916 5	202 7	204 2	GTTATCTGCTGCTG GC	eekkkkkkkkkkk ee	93	13496	13511	16 3
60916 6	202 8	204 3	TGTTATCTGCTGCT GG	eekkkkkkkkkkk ee	98	13497	13512	17 9
60916 7	202 9	204 4	TTGTTATCTGCTGC TG	eekkkkkkkkkkk ee	95	13498	13513	18 0
60916 8	203 0	204 5	GTTGTTATCTGCTG CT	eekkkkkkkkkkk ee	95	13499	13514	18 1
60916 9	203 1	204 6	GGTTGTTATCTGCT GC	eekkkkkkkkkkk ee	95	13500	13515	18 2
60917 0	203 2	204 7	GGGTTGTTATCTGC TG	eekkkkkkkkkkk ee	96	13501	13516	16 4
60917 1	204 6	206 1	CGCTGATTTGTCCG GG	eekkkkkkkkkkk ee	90	13515	13530	12 9
60917 2	204 7	206 2	TCGCTGATTTGTCC GG	eekkkkkkkkkkk ee	92	13516	13531	16 5
60917 3	204 8	206 3	ATCGCTGATTTGTC CG	eekkkkkkkkkkk ee	94	13517	13532	18 3
60917 4	204 9	206 4	CATCGCTGATTTGT CC	eekkkkkkkkkkk ee	96	13518	13533	16 6
60917 5	205 0	206 5	ACATCGCTGATTTG TC	eekkkkkkkkkkk ee	91	13519	13534	18 4
60917 6	205 1	206 6	CACATCGCTGATTT GT	eekkkkkkkkkkk ee	94	13520	13535	18 5
60917 7	205 2	206 7	ACACATCGCTGATT TG	eekkkkkkkkkkk ee	96	13521	13536	18 6
60917 8	205 3	206 8	GACACATCGCTGAT TT	eekkkkkkkkkkk ee	88	13522	13537	16 7
60917 9	205 4	206 9	TGACACATCGCTGA TT	eekkkkkkkkkkk ee	84	13523	13538	18 7
60918 0	205 5	207 0	GTGACACATCGCTG AT	eekkkkkkkkkkk ee	83	13524	13539	18 8
60918 1	205 6	207 1	GGTGACACATCGCT GA	eekkkkkkkkkkk ee	87	13525	13540	13 0
60918 2	205 7	207 2	GGGTGACACATCGC TG	eekkkkkkkkkkk ee	90	13526	13541	18 9

【 0 4 6 2 】

10

20

30

40

【表 3 - 7】

60918 3	207 3	208 8	AAAGGTGGGAGACT GG	ekkdddddddddkk ee	82	13542	13557	16 8
60918 4	202 0	203 5	GCTGCTGGCCTTTG CC	ekkdddddddddkk ee	84	13489	13504	17 3
60918 5	202 1	203 6	TGCTGCTGGCCTTT GC	ekkdddddddddkk ee	88	13490	13505	17 4
60918 6	202 2	203 7	CTGCTGCTGGCCTT TG	ekkdddddddddkk ee	88	13491	13506	16 2
60918 7	202 3	203 8	TCTGCTGCTGGCCT TT	ekkdddddddddkk ee	74	13492	13507	17 5
60918 8	202 4	203 9	ATCTGCTGCTGGCC TT	ekkdddddddddkk ee	90	13493	13508	17 6
60918 9	202 5	204 0	TATCTGCTGCTGGC CT	ekkdddddddddkk ee	91	13494	13509	17 7
60919 0	202 6	204 1	TTATCTGCTGCTGG CC	ekkdddddddddkk ee	87	13495	13510	17 8
60919 1	202 7	204 2	GTTATCTGCTGCTG GC	ekkdddddddddkk ee	97	13496	13511	16 3
60919 2	202 8	204 3	TGTTATCTGCTGCT GG	ekkdddddddddkk ee	95	13497	13512	17 9
60919 3	202 9	204 4	TTGTTATCTGCTGC TG	ekkdddddddddkk ee	96	13498	13513	18 0
60919 4	203 0	204 5	GTTGTTATCTGCTG CT	ekkdddddddddkk ee	97	13499	13514	18 1
60919 5	203 1	204 6	GGTTGTTATCTGCT GC	ekkdddddddddkk ee	97	13500	13515	18 2
60919 6	203 2	204 7	GGGTTGTTATCTGC TG	ekkdddddddddkk ee	98	13501	13516	16 4
60919 7	204 6	206 1	CGCTGATTGTCCG GG	ekkdddddddddkk ee	96	13515	13530	12 9
60919 8	204 7	206 2	TCGCTGATTGTCC GG	ekkdddddddddkk ee	95	13516	13531	16 5
60919 9	204 8	206 3	ATCGCTGATTGTGC CG	ekkdddddddddkk ee	96	13517	13532	18 3
60920 0	204 9	206 4	CATCGCTGATTGT CC	ekkdddddddddkk ee	94	13518	13533	16 6
60920 1	205 0	206 5	ACATCGCTGATTG TC	ekkdddddddddkk ee	94	13519	13534	18 4
60920 2	205 1	206 6	CACATCGCTGATTT GT	ekkdddddddddkk ee	94	13520	13535	18 5
60920 3	205 2	206 7	ACACATCGCTGATT TG	ekkdddddddddkk ee	91	13521	13536	18 6
60920 4	205 3	206 8	GACACATCGCTGAT TT	ekkdddddddddkk ee	94	13522	13537	16 7
60920 5	205 4	206 9	TGACACATCGCTGA TT	ekkdddddddddkk ee	87	13523	13538	18 7

【 0 4 6 3 】

10

20

30

40

【表 3 - 8】

60920 6	205 5	207 0	GTGACACATCGCTG AT	ekkkdddddddkk ee	91	13524	13539	18 8
60920 7	205 6	207 1	GGTGACACATCGCT GA	ekkkdddddddkk ee	93	13525	13540	13 0
60920 8	205 7	207 2	GGGTGACACATCGC TG	ekkkdddddddkk ee	97	13526	13541	18 9
60920 9	207 3	208 8	AAAGGTGGGAGACT GG	ekkkdddddddkk ee	95	13542	13557	16 8
60998 3	198 3	200 2	AGGCCTTGCCAGGC ACTGTG	eeeeedddddddd deeeee	75	13452	13471	20 7
60998 4	198 4	200 3	GAGGCCTTGCCAGG CACTGT	eeeeedddddddd deeeee	54	13453	13472	20 8
60998 5	198 5	200 4	AGAGGCCTTGCCAG GCACTG	eeeeedddddddd deeeee	63	13454	13473	20 9
60998 6	198 6	200 5	CAGAGGCCTTGCCA GGCACT	eeeeedddddddd deeeee	63	13455	13474	21 0
60998 7	198 7	200 6	GCAGAGGCCTTGCC AGGCAC	eeeeedddddddd deeeee	36	13456	13475	21 1
60998 8	198 8	200 7	GGCAGAGGCCTTGC CAGGCA	eeeeedddddddd deeeee	48	13457	13476	21 2
60998 9	198 9	200 8	GGGCAGAGGCCTTG CCAGGC	eeeeedddddddd deeeee	55	13458	13477	21 3
60999 0	200 7	202 6	CTTTGCCTCAAAGG CCAGGG	eeeeedddddddd deeeee	38	13476	13495	21 4
60999 1	200 8	202 7	CCTTTGCCTCAAAG GCCAGG	eeeeedddddddd deeeee	12	13477	13496	21 5
60999 2	200 9	202 8	GCCTTTGCCTCAAA GGCCAG	eeeeedddddddd deeeee	11	13478	13497	21 6
60999 3	201 0	202 9	GGCCTTTGCCTCAA AGGCCA	eeeeedddddddd deeeee	16	13479	13498	21 7
60999 4	201 1	203 0	TGGCCTTTGCCTCA AAGGCC	eeeeedddddddd deeeee	13	13480	13499	21 8
60999 5	201 2	203 1	CTGGCCTTTGCCTC AAAGGC	eeeeedddddddd deeeee	13	13481	13500	21 9
60999 6	201 3	203 2	GCTGGCCTTTGCCT CAAAGG	eeeeedddddddd deeeee	35	13482	13501	22 0
60999 7	201 4	203 3	TGCTGGCCTTTGCC TCAAAG	eeeeedddddddd deeeee	20	13483	13502	22 1
60999 8	201 5	203 4	CTGCTGGCCTTTGC CTCAAA	eeeeedddddddd deeeee	33	13484	13503	22 2
60999 9	201 6	203 5	GCTGCTGGCCTTTG CCTCAA	eeeeedddddddd deeeee	69	13485	13504	22 3
61000 0	201 7	203 6	TGCTGCTGGCCTTT GCCTCA	eeeeedddddddd deeeee	55	13486	13505	22 4
61000 1	201 8	203 7	CTGCTGCTGGCCTT TGCTCT	eeeeedddddddd deeeee	73	13487	13506	22 5

【 0 4 6 4 】

10

20

30

40

【表 3 - 9】

61000 2	201 9	203 8	TCTGCTGCTGCCT TTGCCT	eeeeedddddddd deeeee	72	13488	13507	22 6
61000 3	202 0	203 9	ATCTGCTGCTGGCC TTTGCC	eeeeedddddddd deeeee	69	13489	13508	22 7
61000 4	202 1	204 0	TATCTGCTGCTGGC CTTTGC	eeeeedddddddd deeeee	56	13490	13509	22 8
61000 5	202 2	204 1	TTATCTGCTGCTGG CCTTTG	eeeeedddddddd deeeee	29	13491	13510	22 9
61000 6	202 3	204 2	GTTATCTGCTGCTG GCCTTT	eeeeedddddddd deeeee	74	13492	13511	23 0
61000 7	202 4	204 3	TGTTATCTGCTGCT GGCCTT	eeeeedddddddd deeeee	74	13493	13512	23 1
61000 8	202 5	204 4	TTGTTATCTGCTGC TGGCCT	eeeeedddddddd deeeee	72	13494	13513	23 2
61000 9	202 6	204 5	GTTGTTATCTGCTG CTGGCC	eeeeedddddddd deeeee	73	13495	13514	23 3
61001 0	202 7	204 6	GGTTGTTATCTGCT GCTGGC	eeeeedddddddd deeeee	83	13496	13515	23 4
61001 1	202 8	204 7	GGGTTGTTATCTGC TGCTGG	eeeeedddddddd deeeee	76	13497	13516	23 5
61001 2	204 6	206 5	ACATCGCTGATTTG TCCGGG	eeeeedddddddd deeeee	79	13515	13534	23 6
61001 3	204 7	206 6	CACATCGCTGATTT GTCCGG	eeeeedddddddd deeeee	79	13516	13535	23 7
61001 4	204 8	206 7	ACACATCGCTGATT TGTCCG	eeeeedddddddd deeeee	77	13517	13536	23 8
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGAT TTGTCC	eeeeedddddddd deeeee	89	13518	13537	23 9
61001 6	205 0	206 9	TGACACATCGCTGA TTTGTC	eeeeedddddddd deeeee	83	13519	13538	24 0
61001 7	205 1	207 0	GTGACACATCGCTG ATTTGT	eeeeedddddddd deeeee	74	13520	13539	24 1
61001 8	205 2	207 1	GGTGACACATCGCT GATTTG	eeeeedddddddd deeeee	74	13521	13540	24 2
61001 9	205 3	207 2	GGGTGACACATCGC TGATTT	eeeeedddddddd deeeee	76	13522	13541	24 3
61002 0	207 3	209 2	AAGAAAAGGTGGGA GACTGG	eeeeedddddddd deeeee	24	13542	13561	24 4
61002 1	207 4	209 3	GAAGAAAAGGTGGG AGACTG	eeeeedddddddd deeeee	23	13543	13562	24 5
61002 2	207 5	209 4	AGAAGAAAAGGTGG GAGACT	eeeeedddddddd deeeee	26	13544	13563	24 6
61002 3	207 6	209 5	TAGAAGAAAAGGTG GGAGAC	eeeeedddddddd deeeee	24	13545	13564	24 7
61002 4	207 7	209 6	TTAGAAGAAAAGGT GGGAGA	eeeeedddddddd deeeee	19	13546	13565	24 8

【 0 4 6 5 】

10

20

30

40

【表 3 - 1 0】

61002 5	207 8	209 7	ATTAGAAGAAAAGG TGGGAG	eeeeedddddddddd deeeee	30	13547	13566	24 9
61002 6	207 9	209 8	CATTAGAAGAAAAG GTGGGA	eeeeedddddddddd deeeee	40	13548	13567	25 0
61002 7	208 0	209 9	TCATTAGAAGAAAA GGTGGG	eeeeedddddddddd deeeee	56	13549	13568	25 1
61002 8	208 1	210 0	CTCATTAGAAGAAA AGGTGG	eeeeedddddddddd deeeee	74	13550	13569	25 2
61002 9	208 2	210 1	ACTCATTAGAAGAA AAGGTG	eeeeedddddddddd deeeee	62	13551	13570	25 3
61003 0	208 3	210 2	GACTCATTAGAAGA AAAGGT	eeeeedddddddddd deeeee	69	13552	13571	25 4
61003 1	208 4	210 3	CGACTCATTAGAAG AAAAGG	eeeeedddddddddd deeeee	59	13553	13572	25 5
61003 2	208 5	210 4	TCGACTCATTAGAA GAAAAG	eeeeedddddddddd deeeee	50	13554	13573	25 6
61003 3	208 6	210 5	GTCGACTCATTAGA AGAAAA	eeeeedddddddddd deeeee	67	13555	13574	25 7
61003 4	208 7	210 6	AGTCGACTCATTAG AAGAAA	eeeeedddddddddd deeeee	62	13556	13575	25 8
61003 5	208 8	210 7	AAGTCGACTCATT GAAGAA	eeeeedddddddddd deeeee	45	13557	13576	25 9
61003 6	208 9	210 8	AAAGTCGACTCATT AGAAGA	eeeeedddddddddd deeeee	43	13558	13577	26 0
61003 7	209 0	210 9	CAAAGTCGACTCAT TAGAAG	eeeeedddddddddd deeeee	46	13559	13578	26 1
61003 8	209 1	211 0	TCAAAGTCGACTCA TTAGAA	eeeeedddddddddd deeeee	67	13560	13579	26 2
61003 9	209 2	211 1	CTCAAAGTCGACTC ATTAGA	eeeeedddddddddd deeeee	65	13561	13580	26 3
61004 0	209 3	211 2	GCTCAAAGTCGACT CATTAG	eeeeedddddddddd deeeee	74	13562	13581	26 4
61004 1	209 4	211 3	AGCTCAAAGTCGAC TCATTA	eeeeedddddddddd deeeee	61	13563	13582	26 5
61004 2	209 5	211 4	CAGCTCAAAGTCGA CTCATT	eeeeedddddddddd deeeee	71	13564	13583	26 6
61004 3	209 6	211 5	CCAGCTCAAAGTCG ACTCAT	eeeeedddddddddd deeeee	77	13565	13584	26 7
61004 4	209 7	211 6	TCCAGCTCAAAGTC GACTCA	eeeeedddddddddd deeeee	82	13566	13585	26 8
61004 5	209 8	211 7	TTCCAGCTCAAAGT CGACTC	eeeeedddddddddd deeeee	80	13567	13586	26 9
61004 6	209 9	211 8	TTTCCAGCTCAAAG TCGACT	eeeeedddddddddd deeeee	84	13568	13587	27 0
61004 7	210 0	211 9	CTTTCCAGCTCAAA GTCGAC	eeeeedddddddddd deeeee	65	13569	13588	27 1

【 0 4 6 6 】

10

20

30

40

【表 3 - 1 1】

61004 8	210 1	212 0	GCTTTCCAGCTCAA AGTCGA	eeeeedddddddddd deeeee	61	13570	13589	27 2
61004 9	210 2	212 1	TGCTTTCCAGCTCA AAGTCG	eeeeedddddddddd deeeee	69	13571	13590	27 3
61005 0	210 3	212 2	CTGCTTTCCAGCTC AAAGTC	eeeeedddddddddd deeeee	54	13572	13591	27 4
61005 1	210 4	212 3	GCTGCTTTCCAGCT CAAAGT	eeeeedddddddddd deeeee	57	13573	13592	27 5
61005 2	210 5	212 4	GGCTGCTTTCCAGC TCAAAG	eeeeedddddddddd deeeee	63	13574	13593	27 6
61005 3	210 6	212 5	CGGCTGCTTTCCAG CTCAAA	eeeeedddddddddd deeeee	40	13575	13594	27 7
61005 4	210 7	212 6	ACGGCTGCTTTCCA GCTCAA	eeeeedddddddddd deeeee	62	13576	13595	27 8
61005 5	210 8	212 7	AACGGCTGCTTTCC AGCTCA	eeeeedddddddddd deeeee	69	13577	13596	27 9
61005 6	210 9	212 8	AAACGGCTGCTTTC CAGCTC	eeeeedddddddddd deeeee	54	13578	13597	28 0
61005 7	211 0	212 9	GAAACGGCTGCTTT CCAGCT	eeeeedddddddddd deeeee	64	13579	13598	28 1
61005 8	211 1	213 0	AGAAACGGCTGCTT TCCAGC	eeeeedddddddddd deeeee	57	13580	13599	28 2
61005 9	211 2	213 1	GAGAAACGGCTGCT TTCCAG	eeeeedddddddddd deeeee	56	13581	13600	28 3
61006 0	211 3	213 2	GGAGAAACGGCTGC TTTCCA	eeeeedddddddddd deeeee	73	13582	13601	28 4

【 0 4 6 7】

表 3 は、20,000 細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用し
て 500 nM のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした Hep G 2 細胞
中での AGT mRNA 阻害を示す。約 24 時間の処置期間後、RNA を細胞から単離し
、AGT mRNA レベルを定量リアルタイム PCR によって測定した。ヒトプライマー
プローブセット RTS 3721 を使用して mRNA レベルを測定した。RIBOGREEN
(登録商標) によって測定した全 RNA 含量に従って AGT mRNA レベルを調整し
た。無処置の対照細胞に対する AGT の阻害率 (%) として結果を示す。

【 0 4 6 8】

10

20

30

【表 4 - 1】

表 3

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする M O E 及び／または c E t 含有ギャップマーによる A G T m R N A 阻害

ISIS番号	配列番号 1 開始部位	配列番号 1 終止部位	配列	化学的構造	阻害率 (%)	配列番号 2 開始部位	配列番号 2: 終止部位	配列番号
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eekddddddddddkke	65	13515	13530	129
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eekddddddddddkke	75	13515	13530	129
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eekddddddddddkke	0	13515	13530	129
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eekddddddddddkke	72	13515	13530	129
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eekddddddddddkke	65	13515	13530	129
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkddddddddddkkk	80	13496	13511	163
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkddddddddddkkk	81	13496	13511	163
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkddddddddddkkk	81	13496	13511	163
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkddddddddddkkk	76	13496	13511	163

10

【 0 4 6 9】

20

【表 4 - 2】

594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkddddddddddkkk	88	13496	13511	163
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkddddddddddkkk	68	13516	13531	165
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkddddddddddkkk	75	13516	13531	165
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkddddddddddkkk	62	13516	13531	165
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkddddddddddkkk	54	13516	13531	165
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkddddddddddkkk	81	13516	13531	165
611901	1	16	TGCCCCGCTCATGGGAT	ekkkddddddddddkke	13	1986	2001	14
611902	6	21	CCTGCTGCCCCGCTCAT	ekkkddddddddddkke	19	1991	2006	285
611903	11	26	CTGACCCTGCTGCCCG	ekkkddddddddddkke	19	1996	2011	286
611904	16	31	CACTTCTGACCCTGCT	ekkkddddddddddkke	0	2001	2016	287
611905	35	50	GCTTAGGCAACACGGG	ekkkddddddddddkke	0	2020	2035	16
611906	40	55	GTCTTGCTTAGGCAAC	ekkkddddddddddkke	27	2025	2040	288
611907	45	60	GGAGAGTCTTGCTTAG	ekkkddddddddddkke	0	2030	2045	17
611908	67	82	GGTGCAGAGGGCAGAG	ekkkddddddddddkke	0	2052	2067	289
611909	72	87	CCGGAGGTGCAGAGGG	ekkkddddddddddkke	17	2057	2072	290
611910	77	92	GCAGGCCGGAGGTGCA	ekkkddddddddddkke	10	2062	2077	291
611911	82	97	GACATGCAGGCCGGAG	ekkkddddddddddkke	16	2067	2082	292
611912	87	102	ACAGGGACATGCAGGC	ekkkddddddddddkke	20	2072	2087	293
611913	92	107	AGGCCACAGGGACATG	ekkkddddddddddkke	5	2077	2092	294
611914	97	112	CCAAGAGGCCACAGGG	ekkkddddddddddkke	0	2082	2097	295
611915	102	117	TACCCCAAGAGGCCA	ekkkddddddddddkke	0	2087	2102	296
611916	107	122	AGATGTACCCCAAGA	ekkkddddddddddkke	8	2092	2107	297
611917	112	127	CCGGGAGATGTACCCC	ekkkddddddddddkke	16	2097	2112	298
611918	117	132	CAGCCCCGGGAGATGT	ekkkddddddddddkke	15	2102	2117	299
611919	122	137	TGACCCAGCCCCGGGA	ekkkddddddddddkke	4	2107	2122	20
611920	127	142	CCTTCTGACCCAGCCC	ekkkddddddddddkke	23	2112	2127	300
611921	132	147	CCAGGCCTTCTGACCC	ekkkddddddddddkke	20	2117	2132	301
611922	137	152	ACCACCCAGGCCTTCT	ekkkddddddddddkke	15	2122	2137	302
611923	142	157	GGCCAACCAACCAGGC	ekkkddddddddddkke	11	2127	2142	303
611924	147	162	CCTGAGGCCAACCACC	ekkkddddddddddkke	0	2132	2147	304
611925	152	167	GACAGCCTGAGGCCAA	ekkkddddddddddkke	18	2137	2152	305
611926	157	172	TGTGTGACAGCCTGAG	ekkkddddddddddkke	12	2142	2157	306
611927	162	177	CTAGGTGTGTGACAGC	ekkkddddddddddkke	23	2147	2162	307
611928	167	182	TCTCCCTAGGTGTGTG	ekkkddddddddddkke	9	2152	2167	308
611929	172	187	GAGCATCTCCCTAGGT	ekkkddddddddddkke	12	2157	2172	309
611930	177	192	AACGGGAGCATCTCCC	ekkkddddddddddkke	8	2162	2177	310
611931	182	197	CCAGAAACGGGAGCAT	ekkkddddddddddkke	9	2167	2182	311
611932	187	202	GGTTCCAGAAACGGG	ekkkddddddddddkke	13	2172	2187	312
611933	192	207	GCCAAGGTTCCAGAA	ekkkddddddddddkke	33	2177	2192	313
611934	208	223	GTTTGCAGGAGTCGGG	ekkkddddddddddkke	17	2193	2208	314
611935	213	228	CCGAAGTTTGCAGGAG	ekkkddddddddddkke	27	2198	2213	315
611936	218	233	ATTTACCGAAGTTTGC	ekkkddddddddddkke	7	2203	2218	316
611937	223	238	TACACATTTACCGAAG	ekkkddddddddddkke	14	2208	2223	317

【 0 4 7 0 】

【表 4 - 3】

611938	228	243	CGAGTTACACATTTAC	ekkkkkkkkkkkkkke	12	2213	2228	318
611939	233	248	AGGGTCGAGTTACACA	ekkkkkkkkkkkkkke	9	2218	2233	319
611940	238	253	GGTGCAGGGTCGAGTT	ekkkkkkkkkkkkkke	28	2223	2238	320
611941	243	258	GAGCCGGTGCAGGGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	26	2228	2243	321
611942	248	263	AGAGTGAGCCGGTGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	8	2233	2248	27
611943	253	268	TGAACAGAGTGAGCCG	ekkkkkkkkkkkkkke	16	2238	2253	322
611944	258	273	ACTGCTGAACAGAGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	17	2243	2258	28
611945	263	278	GTTTCACTGCTGAACA	ekkkkkkkkkkkkkke	17	2248	2263	323
611946	268	283	GCAGAGTTTCACTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	2253	2268	29
611947	273	288	TCGATGCAGAGTTTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	2	2258	2273	324
611948	278	293	AGTGATCGATGCAGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	12	2263	2278	30
611949	283	298	GTCTTAGTGATCGATG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	2268	2283	325
611950	288	303	AGGAAGTCTTAGTGAT	ekkkkkkkkkkkkkke	3	2273	2288	31
611951	293	308	CTTCCAGGAAGTCTTA	ekkkkkkkkkkkkkke	10	2278	2293	326
611952	299	314	GGACCTCTTCCAGGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	21	2284	2299	327
611953	304	319	CGCTGGGACCTCTTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	20	2289	2304	328
611954	309	324	ACTCACGCTGGGACCT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	2294	2309	329
611955	314	329	GCGACACTCACGCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	21	2299	2314	330
611956	319	334	CAGAAGCGACACTCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	18	2304	2319	331
611957	324	339	GATGCCAGAAGCGACA	ekkkkkkkkkkkkkke	1	2309	2324	332
611958	329	344	GGACAGATGCCAGAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	16	2314	2329	333
611959	334	349	CAGAAGGACAGATGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	2319	2334	334
611960	339	354	CTGGCCAGAAGGACAG	ekkkkkkkkkkkkkke	13	2324	2339	335
611961	344	359	ACAGGCTGGCCAGAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	15	2329	2344	336
611962	349	364	AGACCACAGGCTGGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	17	2334	2349	337
611963	354	369	TGGCCAGACCACAGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	21	2339	2354	338
611964	359	374	TCACTTGGCCAGACCA	ekkkkkkkkkkkkkke	7	2344	2359	339
611965	364	379	TTACATCACTTGGCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	21	2349	2364	340
611966	369	384	GAGGGTTACATCACTT	ekkkkkkkkkkkkkke	20	2354	2369	341
611967	374	389	GAGAGGAGGGTTACAT	ekkkkkkkkkkkkkke	18	2359	2374	342
611968	386	401	GTGCACAGGCTGGAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	4	2371	2386	36
611969	391	406	TGCCTGTGCACAGGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	10	2376	2391	343
611970	396	411	CAGGCTGCCTGTGCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	26	2381	2396	344
611971	401	416	GTTCCCAGGCTGCCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	30	2386	2401	345
611972	406	421	GAGCTGTTCCAGGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	15	2391	2406	346
611973	411	426	GGATGGAGCTGTTCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	19	2396	2411	347
611974	431	446	TATTTATAGCTGAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	11	2416	2431	37
611975	436	451	TGCCCTATTTATAGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	20	2421	2436	348
611976	441	456	CACGATGCCCTATTTA	ekkkkkkkkkkkkkke	11	2426	2441	38
612381	1852	1867	CTCCAAGACCTCAGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	4	13321	13336	349
612382	1855	1870	CACCTCCAAGACCTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	18	13324	13339	350
612383	1858	1873	GGTCACCTCCAAGACC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13327	13342	351
612384	1861	1876	CAGGGTCACCTCCAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	16	13330	13345	352

【表 4 - 4】

612385	1864	1879	GTTCAAGGGTCACCTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	28	13333	13348	353
612386	1867	1882	GCGGTTCAAGGGTCACC	ekkkkkkkkkkkkkke	18	13336	13351	354
612387	1873	1888	GAATGGGCGGTTCAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	6	13342	13357	355
612388	1876	1891	CAGGAATGGGCGGTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13345	13360	356
612389	1879	1894	AAACAGGAATGGGCGG	ekkkkkkkkkkkkkke	16	13348	13363	357
612390	1883	1898	CAGCAAACAGGAATGG	ekkkkkkkkkkkkkke	11	13352	13367	358
612391	1887	1902	TACACAGCAAACAGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	8	13356	13371	359
612392	1892	1907	GATCATACACAGCAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	6	13361	13376	360
612393	1895	1910	TTTGATCATACACAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	15	13364	13379	361
612394	1898	1913	CGCTTTGATCATACAC	ekkkkkkkkkkkkkke	16	13367	13382	362
612395	1916	1931	GGAAGTGCAGGGCAGT	ekkkkkkkkkkkkkke	8	13385	13400	363
612396	1923	1938	CGGCCCAGGAAGTGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13392	13407	123
612397	1926	1941	ACGCGGCCAGGAAGT	ekkkkkkkkkkkkkke	1	13395	13410	364
612398	1929	1944	GCCACGCGGCCAGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	6	13398	13413	365
612399	1932	1947	TTGGCCACGCGGCCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	7	13401	13416	366
612400	1935	1950	GGGTTGGCCACGCGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	29	13404	13419	367
612401	1938	1953	AGCGGGTTGGCCACGC	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13407	13422	368
612402	1941	1956	CTCAGCGGGTTGGCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13410	13425	369
612403	1944	1959	GTGCTCAGCGGGTTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13413	13428	370
612404	1947	1962	GCTGTGCTCAGCGGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	39	13416	13431	371
612405	1949	1964	ATGCTGTGCTCAGCGG	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13418	13433	372
612406	1950	1965	CATGCTGTGCTCAGCG	ekkkkkkkkkkkkkke	20	13419	13434	373
612407	1951	1966	TCATGCTGTGCTCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	23	13420	13435	374
612408	1952	1967	CTCATGCTGTGCTCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	29	13421	13436	375
612409	1954	1969	GCCTCATGCTGTGCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	36	13423	13438	376
612410	1956	1971	TGGCCTCATGCTGTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13425	13440	377
612411	1957	1972	CTGGCCTCATGCTGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	2	13426	13441	378
612412	1959	1974	CCCTGGCCTCATGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	5	13428	13443	379
612413	1960	1975	GCCCTGGCCTCATGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	6	13429	13444	380
612414	1961	1976	GGCCTGGCCTCATGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13430	13445	126
612415	1976	1991	GGCACTGTGTTCTGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	45	13445	13460	381
612416	1987	2002	AGGCCTTGCCAGGCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	35	13456	13471	382
612417	1992	2007	GGCAGAGGCCTTGCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	14	13461	13476	383
612418	2007	2022	GCCTCAAAGGCCAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13476	13491	128
612419	2008	2023	TGCCTCAAAGGCCAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	10	13477	13492	384
612420	2009	2024	TTGCCTCAAAGGCCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	7	13478	13493	385
612421	2010	2025	TTTGCCTCAAAGGCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13479	13494	386
612422	2011	2026	CTTTGCCTCAAAGGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13480	13495	387
612423	2012	2027	CCTTTGCCTCAAAGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	14	13481	13496	388
612424	2013	2028	GCCTTTGCCTCAAAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	3	13482	13497	389
612425	2014	2029	GGCCTTTGCCTCAAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	15	13483	13498	390
612426	2015	2030	TGGCCTTTGCCTCAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13484	13499	391
612427	2016	2031	CTGGCCTTTGCCTCAA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13485	13500	392

【 0 4 7 2 】

10

20

30

40

【表 4 - 5】

612428	2017	2032	GCTGGCCTTTGCCTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	5	13486	13501	393
612429	2100	2115	CCAGCTCAAAGTCGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	46	13569	13584	394
612430	2101	2116	TCCAGCTCAAAGTCGA	ekkkkkkkkkkkkkke	34	13570	13585	395
612431	2102	2117	TTCCAGCTCAAAGTCG	ekkkkkkkkkkkkkke	16	13571	13586	396
612432	2103	2118	TTTCCAGCTCAAAGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	5	13572	13587	397
612433	2105	2120	GCTTTCCAGCTCAAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	9	13574	13589	398
612434	2110	2125	CGGCTGCTTTCCAGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13579	13594	399
612435	2111	2126	ACGGCTGCTTTCCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	24	13580	13595	133
612436	2112	2127	AACGGCTGCTTTCCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	14	13581	13596	400
612437	2113	2128	AAACGGCTGCTTTCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	14	13582	13597	401
612438	2114	2129	GAAACGGCTGCTTTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13583	13598	402
612439	2115	2130	AGAAACGGCTGCTTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	15	13584	13599	403
612440	2116	2131	GAGAAACGGCTGCTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	33	13585	13600	404
612441	2117	2132	GGAGAAACGGCTGCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	26	13586	13601	405
612442	2118	2133	AGGAGAAACGGCTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	50	13587	13602	406
612443	2119	2134	AAGGAGAAACGGCTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	21	13588	13603	407
612444	2120	2135	CAAGGAGAAACGGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	30	13589	13604	408
612445	2121	2136	CCAAGGAGAAACGGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	43	13590	13605	134
612446	2122	2137	ACCAAGGAGAAACGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	32	13591	13606	409
612447	2123	2138	GACCAAGGAGAAACGG	ekkkkkkkkkkkkkke	33	13592	13607	410
612448	2124	2139	AGACCAAGGAGAAACG	ekkkkkkkkkkkkkke	55	13593	13608	411
612449	2125	2140	TAGACCAAGGAGAAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	15	13594	13609	412
612450	2126	2141	TTAGACCAAGGAGAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	17	13595	13610	413
612451	2128	2143	ACTTAGACCAAGGAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	32	13597	13612	414
612452	2129	2144	CACTTAGACCAAGGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	38	13598	13613	415
612453	2130	2145	ACACTTAGACCAAGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	48	13599	13614	416
612454	2133	2148	AGCACACTTAGACCAA	ekkkkkkkkkkkkkke	29	13602	13617	417
612455	2134	2149	CAGCACACTTAGACCA	ekkkkkkkkkkkkkke	31	13603	13618	418
612456	2135	2150	GCAGCACACTTAGACC	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13604	13619	419
612457	2136	2151	TGCAGCACACTTAGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	18	13605	13620	420
612458	2137	2152	ATGCAGCACACTTAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13606	13621	421
612459	2138	2153	CATGCAGCACACTTAG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13607	13622	422
612460	2139	2154	CCATGCAGCACACTTA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13608	13623	423
612461	2140	2155	TCCATGCAGCACACTT	ekkkkkkkkkkkkkke	24	13609	13624	424
612462	2141	2156	CTCCATGCAGCACACT	ekkkkkkkkkkkkkke	40	13610	13625	425
612463	2142	2157	ACTCCATGCAGCACAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13611	13626	426
612464	2143	2158	CACTCCATGCAGCACA	ekkkkkkkkkkkkkke	18	13612	13627	427
612465	2144	2159	TCACTCCATGCAGCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	14	13613	13628	428
612466	2162	2177	GCTGCAGGCTTCTACT	ekkkkkkkkkkkkkke	12	13631	13646	429
612467	2163	2178	CGCTGCAGGCTTCTAC	ekkkkkkkkkkkkkke	2	13632	13647	430
612468	2164	2179	CCGCTGCAGGCTTCTA	ekkkkkkkkkkkkkke	2	13633	13648	431
612469	2165	2180	GCCGCTGCAGGCTTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	12	13634	13649	432
612470	2166	2181	TGCCGCTGCAGGCTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	1	13635	13650	136

【 0 4 7 3 】

【表 4 - 6】

612471	2167	2182	GTGCCGCTGCAGGCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	12	13636	13651	433
612472	2168	2183	TGTGCCGCTGCAGGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	31	13637	13652	434
612473	2169	2184	TTGTGCCGCTGCAGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	20	13638	13653	435
612474	2170	2185	TTTGTGCCGCTGCAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	27	13639	13654	436
612475	2171	2186	ATTTGTGCCGCTGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	29	13640	13655	437
612476	2172	2187	CATTTGTGCCGCTGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	33	13641	13656	438
612477	2173	2188	GCATTTGTGCCGCTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	48	13642	13657	439
612478	2174	2189	TGCATTTGTGCCGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13643	13658	440
612479	2175	2190	GTGCATTTGTGCCGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	49	13644	13659	441
612480	2176	2191	GGTGCATTTGTGCCGC	ekkkkkkkkkkkkkke	32	13645	13660	137
612481	2177	2192	AGGTGCATTTGTGCCG	ekkkkkkkkkkkkkke	40	13646	13661	442
612482	2178	2193	GAGGTGCATTTGTGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	48	13647	13662	443
612483	2179	2194	GGAGGTGCATTTGTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	17	13648	13663	444
612484	2180	2195	GGGAGGTGCATTTGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	15	13649	13664	445
612485	2181	2196	TGGGAGGTGCATTTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	25	13650	13665	446
612486	2182	2197	CTGGGAGGTGCATTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	25	13651	13666	447
612487	2183	2198	ACTGGGAGGTGCATTT	ekkkkkkkkkkkkkke	19	13652	13667	448
612488	2184	2199	AACTGGGAGGTGCATT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13653	13668	449
612489	2185	2200	AAACTGGGAGGTGCAT	ekkkkkkkkkkkkkke	14	13654	13669	450
612490	2186	2201	CAAACCTGGGAGGTGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	53	13655	13670	451
612491	2187	2202	GCAAACTGGGAGGTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	63	13656	13671	452
612492	2188	2203	AGCAAACTGGGAGGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	26	13657	13672	453
612493	2192	2207	ACCCAGCAAACTGGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13661	13676	454
612494	2193	2208	AACCCAGCAAACTGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13662	13677	455
612495	2195	2210	TAAACCCAGCAAACTG	ekkkkkkkkkkkkkke	8	13664	13679	456
612496	2196	2211	ATAAACCCAGCAAACT	ekkkkkkkkkkkkkke	4	13665	13680	457
612497	2210	2225	CCCCATTCTCTAAAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	24	13679	13694	458
612498	2211	2226	CCCCATTCTCTAAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13680	13695	459
612499	2212	2227	ACCCCCATTCTCTAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13681	13696	460
612500	2213	2228	CACCCCCATTCTCTAA	ekkkkkkkkkkkkkke	6	13682	13697	461
612501	2214	2229	CCACCCCCATTCTCTA	ekkkkkkkkkkkkkke	39	13683	13698	462
612502	2226	2241	GTTCTTGCCTCCCCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	61	13695	13710	463
612503	2227	2242	GGTTCTTGCCTCCCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	76	13696	13711	464
612504	2228	2243	TGGTTCTTGCCTCCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	59	13697	13712	465
612505	2229	2244	CTGGTTCTTGCCTCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	66	13698	13713	466
612506	2230	2245	ACTGGTTCTTGCCTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	70	13699	13714	467
612507	2231	2246	CACTGGTTCTTGCCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	57	13700	13715	468
612508	2232	2247	ACACTGGTTCTTGCCT	ekkkkkkkkkkkkkke	45	13701	13716	469
612509	2233	2248	AACACTGGTTCTTGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	66	13702	13717	470
612510	2234	2249	AAACACTGGTTCTTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	52	13703	13718	471
612511	2235	2250	TAAACACTGGTTCTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	17	13704	13719	472
612512	2236	2251	CTAAACACTGGTTCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	35	13705	13720	473
612513	2237	2252	GCTAAACACTGGTTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	53	13706	13721	474

【 0 4 7 4 】

10

20

30

40

【表 4 - 7】

612514	2238	2253	CGCTAAACACTGGTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	56	13707	13722	475
612515	2239	2254	GCGCTAAACACTGGTT	ekkkkkkkkkkkkkke	59	13708	13723	476
612516	2240	2255	CGCGCTAAACACTGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	66	13709	13724	477
612517	2241	2256	CCGCGCTAAACACTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	57	13710	13725	478
612518	2242	2257	CCCGCGCTAAACACTG	ekkkkkkkkkkkkkke	35	13711	13726	479
612519	2243	2258	TCCCGCGCTAAACACT	ekkkkkkkkkkkkkke	60	13712	13727	480
612520	2244	2259	GTCCCGCGCTAAACAC	ekkkkkkkkkkkkkke	38	13713	13728	481
612521	2245	2260	AGTCCCGCGCTAAACA	ekkkkkkkkkkkkkke	35	13714	13729	482
612522	2246	2261	TAGTCCCGCGCTAAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	1	13715	13730	483
612524	2248	2263	AGTAGTCCCGCGCTAA	ekkkkkkkkkkkkkke	47	13717	13732	484
612525	2249	2264	CAGTAGTCCCGCGCTA	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13718	13733	485
612526	2250	2265	ACAGTAGTCCCGCGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	32	13719	13734	486
612527	2251	2266	AACAGTAGTCCCGCGC	ekkkkkkkkkkkkkke	46	13720	13735	487
612528	2252	2267	GAACAGTAGTCCCGCG	ekkkkkkkkkkkkkke	27	13721	13736	488
612529	2253	2268	GGAACAGTAGTCCCGC	ekkkkkkkkkkkkkke	46	13722	13737	489
612530	2254	2269	TGGAACAGTAGTCCCG	ekkkkkkkkkkkkkke	17	13723	13738	490
612531	2255	2270	TTGGAACAGTAGTCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	42	13724	13739	491
612532	2256	2271	TTTGAACAGTAGTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	14	13725	13740	492
612533	2257	2272	TTTTGAACAGTAGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	7	13726	13741	493
612534	2258	2273	TTTTTGAACAGTAGT	ekkkkkkkkkkkkkke	4	13727	13742	494
612535	2259	2274	CTTTTTGAACAGTAG	ekkkkkkkkkkkkkke	31	13728	13743	495
612536	2264	2279	GAATTCTTTTTGGAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	6	13733	13748	496
612537	2265	2280	GGAATTCTTTTTGGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	45	13734	13749	497
612538	2266	2281	TGGAATTCTTTTTGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	42	13735	13750	498
612539	2267	2282	TTGGAATTCTTTTTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	26	13736	13751	499
612540	2270	2285	CGGTTGGAATTCTTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	61	13739	13754	500
612541	2271	2286	TCGGTTGGAATTCTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	58	13740	13755	501
612542	2272	2287	GTCGGTTGGAATTCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	60	13741	13756	502
612543	2273	2288	GGTCGGTTGGAATTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	58	13742	13757	503
612544	2274	2289	TGGTCGGTTGGAATTC	ekkkkkkkkkkkkkke	46	13743	13758	138
612545	2275	2290	CTGGTCGGTTGGAATT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13744	13759	504
612546	2276	2291	GCTGGTCGGTTGGAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	27	13745	13760	505
612547	2277	2292	AGCTGGTCGGTTGGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	33	13746	13761	506
612548	2278	2293	AAGCTGGTCGGTTGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	51	13747	13762	507
612549	2279	2294	CAAGCTGGTCGGTTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	32	13748	13763	508
612550	2280	2295	ACAAGCTGGTCGGTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	19	13749	13764	509
612551	2281	2296	AACAAGCTGGTCGGTT	ekkkkkkkkkkkkkke	39	13750	13765	510
612552	2282	2297	AAACAAGCTGGTCGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	49	13751	13766	511
612553	2283	2298	CAAACAAGCTGGTCGG	ekkkkkkkkkkkkkke	63	13752	13767	512
612554	2284	2299	ACAAACAAGCTGGTCG	ekkkkkkkkkkkkkke	48	13753	13768	139
612555	2285	2300	CACAAACAAGCTGGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	37	13754	13769	513
612556	2286	2301	TCACAAACAAGCTGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	28	13755	13770	514
612557	2287	2302	TTCACAAACAAGCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	52	13756	13771	515

【 0 4 7 5 】

10

20

30

40

【表 4 - 8】

612558	2288	2303	TTTCACAAACAAGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	14	13757	13772	516
612559	2289	2304	GTTTCACAAACAAGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	65	13758	13773	517
612560	2290	2305	TGTTTCACAAACAAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	58	13759	13774	518
612561	2291	2306	TTGTTTCACAAACAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	8	13760	13775	519
612562	2304	2319	AGGGAACACTTTTTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	26	13773	13788	520
612563	2311	2326	CTTGAAAAGGGAACAC	ekkkkkkkkkkkkkke	29	13780	13795	140
612564	2312	2327	ACTTGAAAAGGGAACA	ekkkkkkkkkkkkkke	19	13781	13796	521
612565	2313	2328	AACTTGAAAAGGGAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	2	13782	13797	522
612566	2316	2331	CTCAACTTGAAAAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	49	13785	13800	523
612567	2321	2336	TTGTTCTCAACTTGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	58	13790	13805	524
612568	2322	2337	TTGTTCTCAACTTGA	ekkkkkkkkkkkkkke	63	13791	13806	525
612569	2329	2344	CCCAATTTTTGTTCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	65	13798	13813	526
612570	2330	2345	ACCCAATTTTTGTTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	37	13799	13814	527
612571	2331	2346	AACCCAATTTTTGTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	30	13800	13815	141
612572	2362	2377	GGCAATGCAAAAATGT	ekkkkkkkkkkkkkke	53	13831	13846	142
612573	2366	2381	CGAAGGCAATGCAAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	7	13835	13850	528
612574	2367	2382	CCGAAGGCAATGCAAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	25	13836	13851	529
612575	2368	2383	ACCGAAGGCAATGCAA	ekkkkkkkkkkkkkke	36	13837	13852	530
612576	2369	2384	AACCGAAGGCAATGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	36	13838	13853	531
612577	2370	2385	AAACCGAAGGCAATGC	ekkkkkkkkkkkkkke	29	13839	13854	532
612578	2371	2386	CAAACCGAAGGCAATG	ekkkkkkkkkkkkkke	6	13840	13855	533
612579	2372	2387	ACAAACCGAAGGCAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13841	13856	534
612580	2373	2388	TACAAACCGAAGGCAA	ekkkkkkkkkkkkkke	27	13842	13857	535
612581	2374	2389	ATACAAACCGAAGGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13843	13858	536
612582	2375	2390	AATACAAACCGAAGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13844	13859	537
612583	2376	2391	AAATACAAACCGAAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13845	13860	538
612584	2377	2392	TAAATACAAACCGAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	25	13846	13861	539
612585	2378	2393	CTAAATACAAACCGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13847	13862	540
612586	2379	2394	ACTAAATACAAACCGA	ekkkkkkkkkkkkkke	19	13848	13863	541
612587	2380	2395	CACTAAATACAAACCG	ekkkkkkkkkkkkkke	15	13849	13864	542
612588	2382	2397	GACACTAAATACAAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13851	13866	543
612589	2385	2400	CAAGACACTAAATACA	ekkkkkkkkkkkkkke	9	13854	13869	544
612590	2386	2401	TCAAGACACTAAATAC	ekkkkkkkkkkkkkke	19	13855	13870	545
612591	2387	2402	TTCAAGACACTAAATA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13856	13871	546
612592	2388	2403	ATTCAAGACACTAAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	2	13857	13872	547
612593	2389	2404	CATTCAAGACACTAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13858	13873	548
612594	2390	2405	ACATTCAAGACACTAA	ekkkkkkkkkkkkkke	8	13859	13874	549
612595	2391	2406	TACATTCAAGACACTA	ekkkkkkkkkkkkkke	1	13860	13875	143
612596	2392	2407	TTACATTCAAGACACT	ekkkkkkkkkkkkkke	3	13861	13876	550
612597	2393	2408	CTTACATTCAAGACAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13862	13877	551
612598	2394	2409	TCTTACATTCAAGACA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13863	13878	552
612599	2395	2410	TTCTTACATTCAAGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13864	13879	553
612600	2398	2413	ATGTTCTTACATTCAA	ekkkkkkkkkkkkkke	10	13867	13882	554

10

20

30

40

【表 4 - 9】

612601	2401	2416	GTCATGTTCTTACATT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13870	13885	555
612602	2402	2417	GGTCATGTTCTTACAT	ekkkkkkkkkkkkkke	34	13871	13886	144
612603	2403	2418	AGGTCATGTTCTTACA	ekkkkkkkkkkkkkke	35	13872	13887	556
612604	2404	2419	GAGGTCATGTTCTTAC	ekkkkkkkkkkkkkke	37	13873	13888	557
612605	2405	2420	GGAGGTCATGTTCTTA	ekkkkkkkkkkkkkke	25	13874	13889	558
612606	2406	2421	CGGAGGTCATGTTCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	31	13875	13890	559
612607	2407	2422	ACGGAGGTCATGTTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	23	13876	13891	560
612608	2408	2423	CACGGAGGTCATGTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	24	13877	13892	561
612685	2565	2580	TGGAGGCTTATTGTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	25	14034	14049	562
612686	2566	2581	TTGGAGGCTTATTGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	30	14035	14050	563
612687	2567	2582	TTTGGAGGCTTATTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	20	14036	14051	564
612688	N/A	N/A	CGGCTTACCTTCTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	30	2483	2498	565
612689	N/A	N/A	CCTCCCGGCTTTTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	23	2562	2577	566
612690	N/A	N/A	TAGGGTGACCACTCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	26	2897	2912	567
612691	N/A	N/A	AGCAAATCGAGGTTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	25	2970	2985	568
612692	N/A	N/A	TATTAGTTCTCTTCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	9	3047	3062	569
612693	N/A	N/A	CCTTTTAGCTTATCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	24	3089	3104	570
612694	N/A	N/A	AATCTGCCTTTTAGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	20	3095	3110	571
612695	N/A	N/A	CAATCTACGCTGCCCT	ekkkkkkkkkkkkkke	27	3124	3139	572
612696	N/A	N/A	AGCACCAATCTACGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	16	3129	3144	573
612697	N/A	N/A	CATCCTGGAGAAGTAG	ekkkkkkkkkkkkkke	9	3276	3291	574
612698	N/A	N/A	GCATCCTGGAGAAGTA	ekkkkkkkkkkkkkke	13	3277	3292	575
612699	N/A	N/A	ATACAGCCCACATTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	17	3316	3331	576
612700	N/A	N/A	CTGTACCATGTAGTTA	ekkkkkkkkkkkkkke	32	3418	3433	577
612701	N/A	N/A	CCACACCGGGCACTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	12	3476	3491	578
612702	N/A	N/A	CCCACCACACCGGGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	22	3480	3495	579
612703	N/A	N/A	TTCCCCACCACACCGG	ekkkkkkkkkkkkkke	19	3483	3498	580
612704	N/A	N/A	TTCACCCTGCAGCTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	13	3497	3512	581
612705	N/A	N/A	CATAGTCCTCACCTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	16	3537	3552	582
612706	N/A	N/A	GTGAAGATGACGGCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	24	3615	3630	583
612707	N/A	N/A	TATGTCTCCCTACTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	25	3651	3666	584
612708	N/A	N/A	GGGAGTAATGGTGCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	33	3755	3770	585
612709	N/A	N/A	GTCCTGGGAGTAATGG	ekkkkkkkkkkkkkke	24	3760	3775	586
612710	N/A	N/A	GGGAACCGACTGCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	24	3977	3992	587
612711	N/A	N/A	CCTGTGGGAACCGACT	ekkkkkkkkkkkkkke	14	3982	3997	588
612712	N/A	N/A	CCTAATCTAGACAGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	5	4024	4039	589
612713	N/A	N/A	CATCCGCTGTTCTCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	2	4133	4148	590
612714	N/A	N/A	CTCCATCCGCTGTTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	28	4136	4151	591
612715	N/A	N/A	GACTCCATCCGCTGTT	ekkkkkkkkkkkkkke	30	4138	4153	592
612716	N/A	N/A	TGACTCCATCCGCTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	25	4139	4154	593
612717	N/A	N/A	GCTGAAGTACCTGGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	34	4230	4245	594
612718	N/A	N/A	GCCCTCAACACGGTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	25	4250	4265	595
612719	N/A	N/A	TGCCCTCAACACGGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	20	4251	4266	596

【 0 4 7 7 】

【表 4 - 1 0】

612720	N/A	N/A	GTCATTCTTCTTACAT	ekkkkkkkkkkkkkke	14	4307	4322	597
612721	N/A	N/A	GCTTCCTTGGAGCTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	5	4390	4405	598
612722	N/A	N/A	GTGTACTGCAATATCG	ekkkkkkkkkkkkkke	39	4446	4461	599
612723	N/A	N/A	CACTCATTTCTTGTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	8	4468	4483	600
612724	N/A	N/A	TTGTACCACATCTCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	21	4481	4496	601
612725	N/A	N/A	GTTCTCTCAAAGGCCT	ekkkkkkkkkkkkkke	32	4651	4666	602
612726	N/A	N/A	GCAGGGTTTAGAACCC	ekkkkkkkkkkkkkke	18	4694	4709	603
612727	N/A	N/A	TATGTAAGCAGGGTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	11	4701	4716	604
612728	N/A	N/A	AAACCAGCTCTCAACC	ekkkkkkkkkkkkkke	5	4864	4879	605
612729	N/A	N/A	TAAGACATGCTCCTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	12	5094	5109	606
612730	N/A	N/A	ACTTATGGCAGCCCAA	ekkkkkkkkkkkkkke	20	5116	5131	607
612731	N/A	N/A	TACTTATGGCAGCCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	12	5117	5132	608
612732	N/A	N/A	CCATTATTTGGAGACA	ekkkkkkkkkkkkkke	9	5426	5441	609
612733	N/A	N/A	TGCCATCTAACCAGAT	ekkkkkkkkkkkkkke	15	5655	5670	610
612745	N/A	N/A	GTTTTCACTAATGCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	21	7085	7100	611

10

【 0 4 7 8】

表 4 は、20, 000 細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用し、1000 nM のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした Hep G2 細胞中での AGT mRNA 阻害を示す。約 24 時間の処置期間後、RNA を細胞から単離し、AGT mRNA レベルを定量リアルタイム PCR によって測定した。ヒトプライマープロブセット RTS 3721 を使用して mRNA レベルを測定した。RIBO GREEN（登録商標）によって測定した全 RNA 含量に従って AGT mRNA レベルを調整した。無処置の対照細胞に対する AGT の阻害率（％）として結果を示す。

20

【 0 4 7 9】

【表 5 - 1】

表 4

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする M O E 及び／または c E t 含有ギャップマーによる A G T m R N A 阻害

ISIS 番号	配列 番号 1 開 始部 位	配列 番号 1 終 止部 位	配列	化学的構造	阻害率 (%)	配列 番号 2 開 始部 位	配列 番号 2: 終 止部 位	配 列 番 号
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekkkkkkkkkkkke	43	13515	13530	129
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekkkkkkkkkkkke	36	13515	13530	129
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekkkkkkkkkkkke	20	13515	13530	129
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekkkkkkkkkkkke	51	13515	13530	129
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkkkkkkkkkkkkkk	92	13496	13511	163
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkkkkkkkkkkkkkk	91	13496	13511	163
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkkkkkkkkkkkkkk	92	13496	13511	163
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkkkkkkkkkkkkkk	90	13496	13511	163
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkkkkkkkkkkkkkk	79	13516	13531	165
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkkkkkkkkkkkkkk	88	13516	13531	165
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkkkkkkkkkkkkkk	80	13516	13531	165
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkkkkkkkkkkkkkk	73	13516	13531	165
611977	446	461	CGGGTCACGATGCCCT	ekkkkkkkkkkkkkke	13	2431	2446	612
611978	451	466	CCGGCCGGGTCACGAT	ekkkkkkkkkkkkkke	20	2436	2451	613
611979	454	469	CCCCCGCCGGGTCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	26	2439	2454	614
611980	457	472	CTTCCCCCGCCGGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	20	2442	2457	615
611981	460	475	CTTCTCCCCCGGCCG	ekkkkkkkkkkkkkke	24	2445	2460	616

【 0 4 8 0 】

【表 5 - 2】

611982	463	478	CAGCTTCTTCCCCCGG	ekkkkkkkkkkkkkke	41	2448	2463	617
611983	466	481	CGGCAGCTTCTTCCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	15	2451	2466	618
611984	469	484	CAACGGCAGCTTCTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	20	2454	2469	619
611985	472	487	GAACAACGGCAGCTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	27	2457	2472	620
611986	475	490	CCAGAACAACGGCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	23	2460	2475	621
611987	478	493	TACCCAGAACAACGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	40	2463	2478	39
611988	481	496	TAGTACCCAGAACAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	10	2466	2481	622
611989	484	499	CTGTAGTACCCAGAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	21	2469	2484	623
611990	487	502	CTGCTGTAGTACCCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	28	2472	2487	624
611991	490	505	CTTCTGCTGTAGTACC	ekkkkkkkkkkkkkke	33	2475	2490	625
611992	493	508	ACCCTTCTGCTGTAGT	ekkkkkkkkkkkkkke	39	N/A	N/A	626
611993	496	511	CATACCCTTCTGCTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	19	N/A	N/A	627
611994	499	514	CCGCATACCCTTCTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	11	N/A	N/A	628
611995	502	517	CTTCCGCATACCCTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	21	N/A	N/A	629
611996	505	520	TCGCTTCCGCATACCC	ekkkkkkkkkkkkkke	53	5722	5737	630
611997	508	523	TGCTCGCTTCCGCATA	ekkkkkkkkkkkkkke	6	5725	5740	631
611998	511	526	GGGTGCTCGCTTCCGC	ekkkkkkkkkkkkkke	38	5728	5743	632
611999	525	540	GCCATCTCAGACTGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	31	5742	5757	40
612000	533	548	CGGCAGGAGCCATCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	31	5750	5765	633
612001	536	551	CACCGGCAGGAGCCAT	ekkkkkkkkkkkkkke	19	5753	5768	634
612002	539	554	TCACACCGGCAGGAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	19	5756	5771	635
612003	542	557	GGCTCACACCGGCAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	41	5759	5774	636
612004	545	560	TCAGGCTCACACCGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	46	5762	5777	42
612005	549	564	GCCCTCAGGCTCACAC	ekkkkkkkkkkkkkke	18	5766	5781	637
612006	552	567	GTGGCCCTCAGGCTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	29	5769	5784	638
612007	555	570	ATGGTGGCCCTCAGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	32	5772	5787	43
612008	561	576	CAGAGGATGGTGGCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	33	5778	5793	639
612009	596	611	GGTCACCTGCAGCCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	38	5813	5828	44
612010	599	614	CCCGGTCACCTGCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	47	5816	5831	640
612011	602	617	ACACCCGGTCACCTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	29	5819	5834	641
612012	605	620	TGTACACCCGGTCACC	ekkkkkkkkkkkkkke	22	5822	5837	642
612013	608	623	GTATGTACACCCGGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	5	5825	5840	643
612014	611	626	GGTGTATGTACACCCG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	5828	5843	644
612015	626	641	TGACGAGGTGGAAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	21	5843	5858	645
612016	629	644	GGATGACGAGGTGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	32	5846	5861	646
612017	632	647	TGTGGATGACGAGGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	48	5849	5864	647
612018	635	650	CATTGTGGATGACGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	28	5852	5867	648
612019	638	653	TCTCATTGTGGATGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	34	5855	5870	649
612020	639	654	CTCTCATTGTGGATGA	ekkkkkkkkkkkkkke	38	5856	5871	650
612021	640	655	ACTCTCATTGTGGATG	ekkkkkkkkkkkkkke	45	5857	5872	651
612022	641	656	TACTCTCATTGTGGAT	ekkkkkkkkkkkkkke	29	5858	5873	652

【 0 4 8 1 】

【表 5 - 3】

612023	642	657	GTACTCTCATTGTGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	46	5859	5874	653
612024	643	658	GGTACTCTCATTGTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	58	5860	5875	46
612025	645	660	CAGGTACTCTCATTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	59	5862	5877	654
612026	646	661	ACAGGTACTCTCATTG	ekkkkkkkkkkkkkke	50	5863	5878	655
612027	647	662	CACAGGTACTCTCATT	ekkkkkkkkkkkkkke	37	5864	5879	656
612028	648	663	TCACAGGTACTCTCAT	ekkkkkkkkkkkkkke	31	5865	5880	657
612029	649	664	CTCACAGGTACTCTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	22	5866	5881	658
612030	652	667	CTGCTCACAGGTACTC	ekkkkkkkkkkkkkke	4	5869	5884	659
612031	659	674	TTGCCAGCTGCTCACA	ekkkkkkkkkkkkkke	39	5876	5891	660
612032	662	677	CCTTTGCCAGCTGCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	45	5879	5894	661
612033	665	680	TGGCCTTTGCCAGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	30	5882	5897	662
612034	668	683	CATTGGCCTTTGCCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	18	5885	5900	663
612035	671	686	CGGCATTGGCCTTTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	18	5888	5903	664
612036	674	689	TCCCGGCATTGGCCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	27	5891	5906	665
612037	677	692	GCTTCCCGGCATTGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	15	5894	5909	666
612038	680	695	TGGGCTTCCCGGCATT	ekkkkkkkkkkkkkke	2	5897	5912	667
612039	683	698	CTTTGGGCTTCCCGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	44	5900	5915	668
612040	686	701	GGTCTTTGGGCTTCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	36	5903	5918	669
612041	701	716	CAGGTATGAAGGTGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	42	5918	5933	670
612042	704	719	GAGCAGGTATGAAGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	39	5921	5936	671
612043	707	722	TTGGAGCAGGTATGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	28	5924	5939	672
612044	710	725	GAATTGGAGCAGGTAT	ekkkkkkkkkkkkkke	20	5927	5942	673
612045	713	728	CCTGAATTGGAGCAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	7	5930	5945	50
612046	716	731	TGGCCTGAATTGGAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	23	5933	5948	674
612047	719	734	TCTTGGCCTGAATTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	29	5936	5951	675
612048	722	737	ATGTCTTGGCCTGAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	22	5939	5954	676
612049	725	740	GGGATGTCTTGGCCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	35	5942	5957	677
612050	739	754	CTTTTCATCCACAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	21	5956	5971	52
612051	742	757	GGCCTTTTCATCCACA	ekkkkkkkkkkkkkke	3	5959	5974	678
612052	745	760	TAGGGCCTTTTCATCC	ekkkkkkkkkkkkkke	10	5962	5977	679
612053	748	763	CTGTAGGGCCTTTTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	5	5965	5980	680
612054	751	766	GTCCTGTAGGGCCTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	6	5968	5983	681
612055	754	769	CTGGTCCTGTAGGGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	19	5971	5986	682
612056	758	773	CCAGCTGGTCCTGTAG	ekkkkkkkkkkkkkke	34	5975	5990	683
612057	759	774	ACCAGCTGGTCCTGTA	ekkkkkkkkkkkkkke	31	5976	5991	684
612058	762	777	AGCACCAGCTGGTCCT	ekkkkkkkkkkkkkke	56	5979	5994	53
612059	763	778	TAGCACCAGCTGGTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	35	5980	5995	685
612060	764	779	CTAGCACCAGCTGGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	18	5981	5996	686
612061	765	780	ACTAGCACCAGCTGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	10	5982	5997	687
612062	766	781	GACTAGCACCAGCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	32	5983	5998	688
612063	767	782	CGACTAGCACCAGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	49	5984	5999	689

【 0 4 8 2 】

10

20

30

40

【表 5 - 4】

612064	768	783	GCGACTAGCACCAGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	39	5985	6000	690
612065	769	784	AGCGACTAGCACCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	29	5986	6001	691
612066	770	785	CAGCGACTAGCACCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	38	5987	6002	692
612067	771	786	GCAGCGACTAGCACCA	ekkkkkkkkkkkkkke	39	5988	6003	693
612068	772	787	TGCAGCGACTAGCACC	ekkkkkkkkkkkkkke	31	5989	6004	54
612069	773	788	TTGCAGCGACTAGCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	28	5990	6005	694
612070	774	789	TTTGCAGCGACTAGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	31	5991	6006	695
612071	775	790	TTTTGCAGCGACTAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	28	5992	6007	696
612072	776	791	GTTTTGCAGCGACTAG	ekkkkkkkkkkkkkke	11	5993	6008	697
612073	777	792	AGTTTTGCAGCGACTA	ekkkkkkkkkkkkkke	7	5994	6009	698
612074	778	793	AAGTTTTGCAGCGACT	ekkkkkkkkkkkkkke	10	5995	6010	699
612075	781	796	GTCAAGTTTTGCAGCG	ekkkkkkkkkkkkkke	49	5998	6013	700
612076	784	799	GGTGTCAAGTTTTGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	39	6001	6016	701
612077	787	802	TTCGGTGTCAAGTTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	53	6004	6019	702
612078	790	805	GTCTTCGGTGTCAAGT	ekkkkkkkkkkkkkke	39	6007	6022	703
612079	793	808	CTTGTCTTCGGTGTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	35	6010	6025	704
612080	796	811	CAACTTGTCTTCGGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	42	6013	6028	705
612081	799	814	CCTCAACTTGTCTTCG	ekkkkkkkkkkkkkke	1	6016	6031	706
612082	802	817	GGCCCTCAACTTGTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6019	6034	707
612083	805	820	TGCGGCCCTCAACTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	13	6022	6037	708
612084	808	823	CATTGCGGCCCTCAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6025	6040	709
612085	811	826	GACCATTGCGGCCCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	30	6028	6043	710
612086	814	829	CCCGACCATTGCGGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	32	6031	6046	711
612087	817	832	CATCCCGACCATTGCG	ekkkkkkkkkkkkkke	49	6034	6049	712
612088	820	835	CAGCATCCCGACCATT	ekkkkkkkkkkkkkke	17	6037	6052	713
612089	823	838	GGCCAGCATCCCGACC	ekkkkkkkkkkkkkke	46	6040	6055	714
612090	826	841	GTTGGCCAGCATCCCG	ekkkkkkkkkkkkkke	10	6043	6058	715
612091	829	844	GAAGTTGGCCAGCATC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6046	6061	716
612092	832	847	CAAGAAGTTGGCCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6049	6064	717
612093	835	850	GCCCAAGAAGTTGGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6052	6067	59
612094	838	853	GAAGCCCAAGAAGTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	28	6055	6070	718
612095	841	856	ACGGAAGCCCAAGAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	13	6058	6073	719
612096	844	859	TATACGGAAGCCCAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	18	6061	6076	720
612097	847	862	ATATATACGGAAGCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6064	6079	721
612098	850	865	GCCATATATACGGAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	42	6067	6082	722
612099	853	868	CATGCCATATATACGG	ekkkkkkkkkkkkkke	20	6070	6085	723
612100	856	871	GTGCATGCCATATATA	ekkkkkkkkkkkkkke	47	6073	6088	724
612101	859	874	ACTGTGCATGCCATAT	ekkkkkkkkkkkkkke	52	6076	6091	725
612102	862	877	CTCACTGTGCATGCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	62	6079	6094	726
612103	865	880	TAGCTCACTGTGCATG	ekkkkkkkkkkkkkke	45	6082	6097	727
612104	868	883	CCATAGCTCACTGTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	66	6085	6100	728

【 0 4 8 3 】

10

20

30

40

【表 5 - 5】

612105	871	886	GCCCCATAGCTCACTG	ekkkkkkkkkkkkkke	16	6088	6103	62
612107	877	892	GACCACGCCCCATAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6094	6109	729
612108	880	895	ATGGACCACGCCCCAT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6097	6112	730
612109	884	899	CCCCATGGACCACGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6101	6116	731
612110	887	902	TGGCCCCATGGACCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	24	6104	6119	732
612111	890	905	CGGTGGCCCCATGGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	1	6107	6122	733
612112	893	908	GGACGGTGGCCCCATG	ekkkkkkkkkkkkkke	4	6110	6125	734
612113	896	911	AGAGGACGGTGGCCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	7	6113	6128	735
612114	899	914	GGGAGAGGACGGTGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	28	6116	6131	736
612115	913	928	AAAGACAGCCGTTGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	30	6130	6145	64
612116	916	931	GCCAAAGACAGCCGTT	ekkkkkkkkkkkkkke	45	6133	6148	737
612117	919	934	GGTGCCAAAGACAGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	52	6136	6151	738
612118	922	937	CAGGGTGCCAAAGACA	ekkkkkkkkkkkkkke	20	6139	6154	739
612119	926	941	AGGCCAGGGTGCCAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	20	6143	6158	740
612120	937	952	CAGATAGAGAGAGGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6154	6169	66
612121	940	955	TCCCAGATAGAGAGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6157	6172	741
612122	943	958	GGCTCCCAGATAGAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	11	6160	6175	742
612123	946	961	CAAGGCTCCCAGATAG	ekkkkkkkkkkkkkke	5	6163	6178	743
612124	949	964	GTCCAAGGCTCCCAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	14	6166	6181	744
612125	952	967	GTGGTCCAAGGCTCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	19	6169	6184	745
612126	955	970	TGTGTGGTCCAAGGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	25	6172	6187	746
612127	958	973	AGCTGTGTGGTCCAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	40	6175	6190	747
612128	961	976	GTCAGCTGTGTGGTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	22	6178	6193	748
612281	1547	1562	CAGAGGCATAGTGAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	25	10558	10573	749
612282	1550	1565	GGTCAGAGGCATAGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	20	10561	10576	103
612283	1553	1568	CCAGGTCAGAGGCATA	ekkkkkkkkkkkkkke	36	10564	10579	750
612284	1557	1572	TTGTCCAGGTCAGAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	24	10568	10583	751
612285	1560	1575	ACCTTGTCAGGTCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	37	10571	10586	752
612286	1566	1581	CCCTCCACCTTGTTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	9	10577	10592	753
612287	1570	1585	GAGACCCTCCACCTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	31	10581	10596	754
612288	1574	1589	AAGTGAGACCCTCCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	5	10585	10600	755
612289	1578	1593	TGGAAAGTGAGACCCT	ekkkkkkkkkkkkkke	13	10589	10604	104
612290	1581	1596	TGCTGGAAAGTGAGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	27	10592	10607	756
612291	1584	1599	TTTTGCTGGAAAGTGA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10595	10610	757
612292	1587	1602	GAGTTTTGCTGGAAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	15	10598	10613	758
612293	1590	1605	AGGGAGTTTTGCTGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	27	10601	10616	759
612294	1594	1609	GTTGAGGGAGTTTTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10605	10620	760
612295	1597	1612	CCAGTTGAGGGAGTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	6	10608	10623	761
612296	1600	1615	CATCCAGTTGAGGGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	8	10611	10626	762
612297	1603	1618	CTTCATCCAGTTGAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	11	10614	10629	763
612298	1612	1627	AGATAGTTTCTTCATC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10623	10638	764

【 0 4 8 4 】

【表 5 - 6】

612299	1629	1644	AGGTGGATGGTCCGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	36	N/A	N/A	765
612300	1632	1647	GTCAGGTGGATGGTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	25	12238	12253	766
612301	1636	1651	CATGGTCAGGTGGATG	ekkkkkkkkkkkkkke	26	12242	12257	767
612302	1639	1654	GGGCATGGTCAGGTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	40	12245	12260	768
612303	1653	1668	TGCAGCACCAATTGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	33	12259	12274	109
612304	1656	1671	CCTTGCAGCACCAATT	ekkkkkkkkkkkkkke	3	12262	12277	769
612305	1659	1674	GATCCTTGCAGCACCA	ekkkkkkkkkkkkkke	12	12265	12280	770
612306	1662	1677	TAAGATCCTTGCAGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	8	12268	12283	771
612307	1665	1680	TCATAAGATCCTTGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	8	12271	12286	772
612308	1669	1684	CAGGTCATAAGATCCT	ekkkkkkkkkkkkkke	8	12275	12290	773
612309	1672	1687	CTGCAGGTCATAAGAT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	12278	12293	774
612310	1675	1690	GTCCTGCAGGTCATAA	ekkkkkkkkkkkkkke	10	12281	12296	775
612311	1682	1697	CGAGCAGGTCCTGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	32	12288	12303	776
612312	1685	1700	GGGCGAGCAGGTCCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	11	12291	12306	777
612313	1688	1703	CCTGGGCGAGCAGGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	22	12294	12309	778
612314	1700	1715	CGGGCAGCTCAGCCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	12306	12321	112
612315	1703	1718	TGGCGGGCAGCTCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	55	12309	12324	779
612316	1706	1721	GAATGGCGGGCAGCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	16	12312	12327	780
612317	1709	1724	GCAGAATGGCGGGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	16	12315	12330	781
612318	1712	1727	TGTGCAGAATGGCGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	24	12318	12333	782
612319	1715	1730	CGGTGTGCAGAATGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	35	12321	12336	783
612320	1718	1733	GCTCGGTGTGCAGAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	13	12324	12339	784
612321	1721	1736	TCAGCTCGGTGTGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	28	12327	12342	785
612322	1724	1739	GGTTCAGCTCGGTGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	49	12330	12345	786
612323	1727	1742	GCAGGTTCAGCTCGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	53	12333	12348	787
612324	1732	1747	TTTTTGCAGGTTTCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	8	12338	12353	788
612325	1735	1750	CAATTTTTGCAGTTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	14	12341	12356	789
612326	1738	1753	GCTCAATTTTTGCAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	38	12344	12359	790
612327	1741	1756	ATTGCTCAATTTTTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	2	12347	12362	791
612328	1744	1759	GTCATTGCTCAATTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	38	12350	12365	792
612329	1747	1762	GCGGTCATTGCTCAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	32	12353	12368	793
612330	1750	1765	GATGCGGTCATTGCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	27	12356	12371	794
612331	1753	1768	CCTGATGCGGTCATTG	ekkkkkkkkkkkkkke	15	12359	12374	795
612332	1756	1771	CACCCTGATGCGGTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	1	12362	12377	796
612333	1759	1774	CCCCACCCTGATGCGG	ekkkkkkkkkkkkkke	11	12365	12380	797
612334	1762	1777	CTCCCCACCCTGATG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	12368	12383	798
612335	1771	1786	GTTCAGCACCTCCCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	12	N/A	N/A	799
612336	1774	1789	GCTGTTCAGCACCTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	57	N/A	N/A	800
612337	1777	1792	AATGCTGTTTCAGCACC	ekkkkkkkkkkkkkke	29	13246	13261	801
612338	1780	1795	AAAAATGCTGTTTCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	38	13249	13264	802
612339	1793	1808	CTTCAAGCTCAAAAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13262	13277	803

【 0 4 8 5】

10

20

30

40

【表 5 - 7】

612340	1796	1811	CCGCTTCAAGCTCAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	41	13265	13280	804
612341	1799	1814	CATCCGCTTCAAGCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	27	13268	13283	805
612342	1802	1817	TCTCATCCGCTTCAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	32	13271	13286	806
612343	1805	1820	CTCTCTCATCCGCTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	26	13274	13289	807
612344	1808	1823	GCTCTCTCTCATCCGC	ekkkkkkkkkkkkkke	44	13277	13292	808
612345	1812	1827	GTGGGCTCTCTCTCAT	ekkkkkkkkkkkkkke	15	13281	13296	809
612346	1817	1832	ACTCTGTGGGCTCTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	42	13286	13301	810
612347	1820	1835	TAGACTCTGTGGGCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	55	13289	13304	811
612348	1824	1839	TGGGTAGACTCTGTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	23	13293	13308	812
612349	1827	1842	TGTTGGGTAGACTCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	30	13296	13311	119
612350	1830	1845	AGCTGTTGGGTAGACT	ekkkkkkkkkkkkkke	34	13299	13314	813
612351	1833	1848	TTAAGCTGTTGGGTAG	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13302	13317	814
612352	1836	1851	TTGTTAAGCTGTTGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	33	13305	13320	815
612353	1839	1854	GGCTTGTTAAGCTGTT	ekkkkkkkkkkkkkke	30	13308	13323	816
612354	1842	1857	TCAGGCTTGTTAAGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	10	13311	13326	817
612355	1845	1860	ACCTCAGGCTTGTTAA	ekkkkkkkkkkkkkke	17	13314	13329	818
612356	1848	1863	AAGACCTCAGGCTTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	33	13317	13332	819
612609	2409	2424	ACACGGAGGTCATGTT	ekkkkkkkkkkkkkke	20	13878	13893	820
612610	2410	2425	TACACGGAGGTCATGT	ekkkkkkkkkkkkkke	25	13879	13894	821
612611	2411	2426	CTACACGGAGGTCATG	ekkkkkkkkkkkkkke	24	13880	13895	822
612612	2412	2427	ACTACACGGAGGTCAT	ekkkkkkkkkkkkkke	26	13881	13896	145
612613	2413	2428	CACTACACGGAGGTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	30	13882	13897	823
612614	2414	2429	ACACTACACGGAGGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	49	13883	13898	824
612615	2415	2430	GACACTACACGGAGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	56	13884	13899	825
612616	2416	2431	AGACACTACACGGAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	40	13885	13900	826
612617	2417	2432	CAGACACTACACGGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	48	13886	13901	827
612618	2418	2433	ACAGACACTACACGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	44	13887	13902	828
612619	2419	2434	TACAGACACTACACGG	ekkkkkkkkkkkkkke	39	13888	13903	829
612620	2420	2435	TTACAGACACTACACG	ekkkkkkkkkkkkkke	28	13889	13904	830
612621	2421	2436	ATTACAGACACTACAC	ekkkkkkkkkkkkkke	21	13890	13905	831
612622	2422	2437	TATTACAGACACTACA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13891	13906	146
612623	2423	2438	GTATTACAGACACTAC	ekkkkkkkkkkkkkke	35	13892	13907	832
612624	2428	2443	CTAAGGTATTACAGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	8	13897	13912	833
612625	2429	2444	ACTAAGGTATTACAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	14	13898	13913	834
612626	2430	2445	AACTAAGGTATTACAG	ekkkkkkkkkkkkkke	14	13899	13914	835
612627	2431	2446	AAACTAAGGTATTACA	ekkkkkkkkkkkkkke	12	13900	13915	836
612628	2432	2447	AAAATAAGGTATTAC	ekkkkkkkkkkkkkke	3	13901	13916	837
612629	2438	2453	GTGGAAAAAACTAAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13907	13922	838
612630	2447	2462	CAAGCATCTGTGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13916	13931	839
612631	2449	2464	CACAAGCATCTGTGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	20	13918	13933	840
612632	2450	2465	TCACAAGCATCTGTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	1	13919	13934	841

【 0 4 8 6 】

【表 5－8】

612633	2451	2466	ATCACAAGCATCTGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	20	13920	13935	842
612634	2452	2467	AATCACAAGCATCTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	2	13921	13936	843
612635	2464	2479	GTATTGTTCAAAAATC	ekkkkkkkkkkkkkke	16	13933	13948	844
612636	2465	2480	CGTATTGTTCAAAAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13934	13949	845
612637	2482	2497	GGTGCTTGCATCTTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	21	13951	13966	147
612638	2483	2498	AGGTGCTTGCATCTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13952	13967	846
612639	2484	2499	CAGGTGCTTGCATCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	19	13953	13968	847
612640	2485	2500	TCAGGTGCTTGCATCT	ekkkkkkkkkkkkkke	38	13954	13969	848
612641	2486	2501	TTCAGGTGCTTGCATC	ekkkkkkkkkkkkkke	29	13955	13970	849
612642	2487	2502	ATTCAGGTGCTTGCAT	ekkkkkkkkkkkkkke	19	13956	13971	850
612643	2488	2503	AATTCAGGTGCTTGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	34	13957	13972	851
612644	2489	2504	AAATTCAGGTGCTTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	24	13958	13973	852
612645	2490	2505	GAAATTCAGGTGCTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	2	13959	13974	853
612646	2491	2506	AGAAATTCAGGTGCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	5	13960	13975	854
612647	2493	2508	ACAGAAATTCAGGTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13962	13977	855
612648	2502	2517	CGCATTCAAACAGAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	22	13971	13986	856
612649	2503	2518	CCGCATTCAAACAGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	50	13972	13987	149
612650	2504	2519	TCCGCATTCAAACAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	35	13973	13988	857
612651	2505	2520	TTCCGCATTCAAACAG	ekkkkkkkkkkkkkke	29	13974	13989	858
612652	2506	2521	GTTCCGCATTCAAACA	ekkkkkkkkkkkkkke	25	13975	13990	859
612653	2507	2522	GGTTCCGCATTCAAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	28	13976	13991	860
612654	2508	2523	TGGTTCCGCATTCAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	38	13977	13992	861
612655	2509	2524	ATGGTTCCGCATTCAA	ekkkkkkkkkkkkkke	45	13978	13993	862
612656	2510	2525	TATGGTTCCGCATTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	42	13979	13994	863
612657	2511	2526	CTATGGTTCCGCATT	ekkkkkkkkkkkkkke	41	13980	13995	864
612658	2512	2527	GCTATGGTTCCGCATT	ekkkkkkkkkkkkkke	58	13981	13996	865
612659	2513	2528	AGCTATGGTTCCGCAT	ekkkkkkkkkkkkkke	32	13982	13997	150
612660	2514	2529	CAGCTATGGTTCCGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	46	13983	13998	866
612661	2515	2530	CCAGCTATGGTTCCGC	ekkkkkkkkkkkkkke	47	13984	13999	867
612662	2516	2531	ACCAGCTATGGTTCCG	ekkkkkkkkkkkkkke	60	13985	14000	868
612663	2517	2532	AACCAGCTATGGTTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	36	13986	14001	869
612664	2518	2533	TAACCAGCTATGGTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13987	14002	870
612665	2519	2534	ATAACCAGCTATGGTT	ekkkkkkkkkkkkkke	17	13988	14003	871
612666	2521	2536	AAATAACCAGCTATGG	ekkkkkkkkkkkkkke	3	13990	14005	872
612667	2522	2537	GAAATAACCAGCTATG	ekkkkkkkkkkkkkke	2	13991	14006	873
612668	2523	2538	AGAAATAACCAGCTAT	ekkkkkkkkkkkkkke	4	13992	14007	874
612669	2535	2550	CTAACACAAGGGAGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	23	14004	14019	875
612670	2536	2551	ACTAACACAAGGGAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	13	14005	14020	876
612671	2537	2552	TACTAACACAAGGGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	9	14006	14021	151
612672	2538	2553	TTACTAACACAAGGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	51	14007	14022	877
612673	2539	2554	ATTACTAACACAAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	47	14008	14023	878

【 0 4 8 7 】

【表 5－9】

612674	2540	2555	TATTACTAACACAAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	16	14009	14024	879
612675	2541	2556	TTATTACTAACACAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	14010	14025	880
612676	2543	2558	GTTTATTACTAACACA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	14012	14027	881
612677	2544	2559	CGTTTATTACTAACAC	ekkkkkkkkkkkkkke	35	14013	14028	882
612678	2558	2573	TTATTGTGGCAAGACG	ekkkkkkkkkkkkkke	28	14027	14042	152
612679	2559	2574	CTTATTGTGGCAAGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	21	14028	14043	883
612680	2560	2575	GCTTATTGTGGCAAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	16	14029	14044	884
612681	2561	2576	GGCTTATTGTGGCAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	35	14030	14045	885
612682	2562	2577	AGGCTTATTGTGGCAA	ekkkkkkkkkkkkkke	34	14031	14046	886
612683	2563	2578	GAGGCTTATTGTGGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	23	14032	14047	887
612684	2564	2579	GGAGGCTTATTGTGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	14033	14048	888

10

【0488】

表5は、20,000細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して1000nMのアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトしたHepG2細胞中でのAGT mRNA阻害を示す。約24時間の処置期間後、RNAを細胞から単離し、AGT mRNAレベルを定量リアルタイムPCRによって測定した。ヒトプライマープロブセットRTS3721を使用してmRNAレベルを測定した。RIBOGRREEN（登録商標）によって測定した全RNA含量に従ってAGT mRNAレベルを調整した。無処置の対照細胞に対するAGTの阻害率（％）として結果を示す。

20

【0489】

【表 6 - 1】

表 5

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする M O E 及び／または c E t 含有ギャップマーによる A G T m R N A 阻害

ISIS 番号	配列 番号 1 開 始部 位	配列 番号 1 終 止部 位	配列	化学的構造	阻 害 率 (%)	配列 番号 2 開 始部 位	配列 番号 2: 終 止部 位	配列 番号
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekdddddskk	87	13515	13530	129
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekdddddskk	90	13515	13530	129
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekdddddskk	95	13515	13530	129
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekdddddskk	94	13515	13530	129
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkdddddskk	6	13496	13511	163
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkdddddskk	83	13496	13511	163
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkdddddskk	86	13496	13511	163
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkdddddskk	85	13496	13511	163
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkdddddskk	0	13516	13531	165
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkdddddskk	64	13516	13531	165
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkdddddskk	74	13516	13531	165
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkdddddskk	70	13516	13531	165
612129	965	980	GCCTGTCAGCTGTGTG	ekkkdddddskk	29	6182	6197	889
612130	968	983	GTAGCCTGTCAGCTGT	ekkkdddddskk	44	6185	6200	890
612131	971	986	CCTGTAGCCTGTCAGC	ekkkdddddskk	21	6188	6203	891
612132	974	989	TTGCCTGTAGCCTGTC	ekkkdddddskk	38	6191	6206	892
612133	977	992	GGATTGCCTGTAGCCT	ekkkdddddskk	14	6194	6209	893
612134	980	995	CCAGGATTGCCTGTAG	ekkkdddddskk	46	6197	6212	894
612135	983	998	CACCCAGGATTGCCTG	ekkkdddddskk	23	6200	6215	895
612136	986	1001	GAACACCCAGGATTGC	ekkkdddddskk	16	6203	6218	895

【 0 4 9 0 】

【表 6 - 2】

612137	993	1008	TTCCAAGGAACACCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	26	6210	6225	69
612138	997	1012	GTCCTTCCAAGGAACA	ekkkkkkkkkkkkkke	27	6214	6229	896
612139	1000	1015	CTTGTCCTTCCAAGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	57	6217	6232	897
612140	1003	1018	GTTCTTGTCTTCCAA	ekkkkkkkkkkkkkke	22	6220	6235	898
612141	1006	1021	GCAGTTCTTGTCTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	42	6223	6238	899
612142	1009	1024	GGTGCAGTTCTTGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6226	6241	900
612143	1012	1027	GGAGGTGCAGTTCTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6229	6244	901
612144	1015	1030	CCGGGAGGTGCAGTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	34	6232	6247	902
612145	1018	1033	CAGCCGGGAGGTGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	30	6235	6250	903
612146	1021	1036	ATCCAGCCGGGAGGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	43	6238	6253	904
612147	1024	1039	CGCATCCAGCCGGGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	63	6241	6256	905
612148	1027	1042	GTGCGCATCCAGCCGG	ekkkkkkkkkkkkkke	64	6244	6259	906
612149	1030	1045	CTTGTGCGCATCCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	4	6247	6262	907
612150	1033	1048	GACCTTGTGCGCATCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6250	6265	908
612151	1036	1051	CAGGACCTTGTGCGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	46	6253	6268	909
612152	1039	1054	AGACAGGACCTTGTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	12	6256	6271	910
612153	1042	1057	GGCAGACAGGACCTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	24	6259	6274	911
612154	1060	1075	GCCCTGTACAGCCTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	36	6277	6292	912
612155	1064	1079	GCAGGCCCTGTACAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	19	6281	6296	913
612156	1067	1082	CTAGCAGGCCCTGTAC	ekkkkkkkkkkkkkke	1	6284	6299	914
612157	1071	1086	GCCACTAGCAGGCCCT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6288	6303	915
612158	1074	1089	TGGGCCACTAGCAGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6291	6306	916
612159	1077	1092	CCCTGGGCCACTAGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	27	6294	6309	917
612160	1080	1095	CTGCCCTGGGCCACTA	ekkkkkkkkkkkkkke	42	6297	6312	918
612161	1088	1103	TATCAGCCCTGCCCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	28	6305	6320	74
612162	1091	1106	GGCTATCAGCCCTGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	38	6308	6323	919
612163	1094	1109	CCTGGCTATCAGCCCT	ekkkkkkkkkkkkkke	38	6311	6326	920
612164	1097	1112	GGGCTGGCTATCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	24	6314	6329	921
612165	1100	1115	GCTGGGCCTGGCTATC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6317	6332	922
612166	1115	1130	CCGTGGACAGCAGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6332	6347	923
612167	1118	1133	CCACCGTGACAGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	28	6335	6350	924
612168	1121	1136	CCACCACCGTGACAG	ekkkkkkkkkkkkkke	27	6338	6353	925
612169	1124	1139	CGCCCACCACCGTGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	11	6341	6356	926
612170	1127	1142	ACACGCCACCACCGT	ekkkkkkkkkkkkkke	18	6344	6359	927
612171	1130	1145	TGAACACGCCACCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	34	6347	6362	928
612172	1133	1148	CTGTGAACACGCCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	37	6350	6365	929
612173	1136	1151	GGGCTGTGAACACGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6353	6368	930
612174	1151	1166	TCAGGTGCAGGCCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	5	6368	6383	78
612175	1154	1169	GCTTCAGGTGCAGGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	45	6371	6386	931
612176	1157	1172	GCTGCTTCAGGTGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	30	6374	6389	932
612177	1160	1175	ACGGCTGCTTCAGGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	45	6377	6392	933

【 0 4 9 1 】

【表 6 - 3】

612178	1163	1178	CAAACGGCTGCTTCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	17	6380	6395	934
612179	1166	1181	GCACAAACGGCTGCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	34	6383	6398	935
612180	1169	1184	CCTGCACAAACGGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6386	6401	936
612181	1172	1187	GGCCCTGCACAAACGG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6389	6404	937
612182	1182	1197	TAGAGAGCCAGGCCCT	ekkkkkkkkkkkkkke	38	6399	6414	80
612183	1185	1200	GTATAGAGAGCCAGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	19	6402	6417	938
612184	1203	1218	CGTGGGAGGACCACAG	ekkkkkkkkkkkkkke	26	6420	6435	81
612185	1217	1232	TGAAGTCCAGAGAGCG	ekkkkkkkkkkkkkke	5	6434	6449	82
612186	1220	1235	CTGTGAAGTCCAGAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	45	6437	6452	939
612187	1223	1238	GTTCTGTGAAGTCCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	49	6440	6455	940
612188	1226	1241	CCAGTTCTGTGAAGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	23	6443	6458	941
612189	1229	1244	CATCCAGTTCTGTGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	31	6446	6461	942
612190	1232	1247	CAACATCCAGTTCTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	30	6449	6464	943
612191	1235	1250	CAGCAACATCCAGTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	35	6452	6467	944
612192	1244	1259	TCTTCTCAGCAGCAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	61	6461	6476	84
612193	1247	1262	CAATCTTCTCAGCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	34	6464	6479	945
612194	1250	1265	TGTCAATCTTCTCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	44	6467	6482	946
612195	1253	1268	ACCTGTCAATCTTCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	47	6470	6485	947
612196	1256	1271	TGAACCTGTCAATCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	18	6473	6488	948
612197	1259	1274	GCATGAACCTGTCAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	39	6476	6491	949
612198	1262	1277	CCTGCATGAACCTGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	35	6479	6494	950
612199	1265	1280	CAGCCTGCATGAACCT	ekkkkkkkkkkkkkke	47	6482	6497	951
612200	1267	1282	CACAGCCTGCATGAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	26	6484	6499	952
612201	1268	1283	TCACAGCCTGCATGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	36	6485	6500	953
612202	1274	1289	ATCCTGTACAGCCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	68	6491	6506	954
612203	1276	1291	CCATCCTGTACAGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	50	6493	6508	955
612204	1277	1292	TCCATCCTGTACAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	7	6494	6509	956
612205	1279	1294	CTTCCATCCTGTACA	ekkkkkkkkkkkkkke	33	6496	6511	957
612206	1282	1297	AGTCTTCCATCCTGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	54	6499	6514	958
612207	1286	1301	AGCCAGTCTTCCATCC	ekkkkkkkkkkkkkke	58	6503	6518	959
612233	1399	1414	CACCCAGAACTCCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	7	10410	10425	960
612234	1402	1417	GTCCACCCAGAACTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	66	10413	10428	961
612235	1405	1420	GTTGTCCACCCAGAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	73	10416	10431	962
612236	1408	1423	GCTGTTGTCCACCCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	76	10419	10434	963
612237	1411	1426	GGTGCTGTTGTCCACC	ekkkkkkkkkkkkkke	25	10422	10437	964
612238	1414	1429	TGAGGTGCTGTTGTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	77	10425	10440	965
612239	1417	1432	CACTGAGGTGCTGTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	92	10428	10443	966
612240	1421	1436	CAGACACTGAGGTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	50	10432	10447	93
612241	1429	1444	CATGGGAACAGACACT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10440	10455	967
612242	1432	1447	GAGCATGGGAACAGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10443	10458	968
612243	1435	1450	AGAGAGCATGGGAACA	ekkkkkkkkkkkkkke	6	10446	10461	969

【 0 4 9 2 】

【表 6 - 4】

612244	1438	1453	GCCAGAGAGCATGGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	52	10449	10464	970
612245	1441	1456	CATGCCAGAGAGCATG	ekkkkkkkkkkkkkke	63	10452	10467	971
612246	1444	1459	GCCCATGCCAGAGAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	59	10455	10470	972
612247	1447	1462	GGTGCCCATGCCAGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	76	10458	10473	973
612248	1450	1465	GAAGGTGCCCATGCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10461	10476	974
612249	1453	1468	CTGGAAGGTGCCCATG	ekkkkkkkkkkkkkke	47	10464	10479	975
612250	1457	1472	AGTGCTGGAAGGTGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10468	10483	976
612251	1460	1475	TCCAGTGCTGGAAGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	11	10471	10486	977
612252	1462	1477	ACTCCAGTGCTGGAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	85	10473	10488	96
612253	1463	1478	CACTCCAGTGCTGGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	31	10474	10489	978
612254	1465	1480	GTCACCTCCAGTGCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	77	10476	10491	97
612255	1466	1481	TGTCACCTCCAGTGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	58	10477	10492	979
612256	1467	1482	ATGTCACTCCAGTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	8	10478	10493	980
612257	1468	1483	GATGTCACTCCAGTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	35	10479	10494	981
612258	1469	1484	GGATGTCACTCCAGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	2	10480	10495	982
612259	1470	1485	TGGATGTCACTCCAGT	ekkkkkkkkkkkkkke	15	10481	10496	983
612260	1472	1487	CCTGGATGTCACTCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	40	10483	10498	984
612261	1475	1490	TGTCCTGGATGTCACT	ekkkkkkkkkkkkkke	46	10486	10501	985
612262	1478	1493	AGTTGTCCTGGATGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	63	10489	10504	986
612263	1481	1496	AGAAGTTGTCCTGGAT	ekkkkkkkkkkkkkke	65	10492	10507	987
612264	1484	1499	CCGAGAAGTTGTCCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	59	10495	10510	99
612265	1487	1502	TCACCGAGAAGTTGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10498	10513	988
612266	1490	1505	GAGTCACCGAGAAGTT	ekkkkkkkkkkkkkke	68	10501	10516	989
612267	1493	1508	CTTGAGTCACCGAGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	76	10504	10519	990
612268	1496	1511	GCACTTGAGTCACCGA	ekkkkkkkkkkkkkke	77	10507	10522	991
612269	1499	1514	AGGGCACTTGAGTCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	43	10510	10525	992
612270	1502	1517	TGAAGGGCACTTGAGT	ekkkkkkkkkkkkkke	42	10513	10528	993
612271	1505	1520	CAGTGAAGGGCACTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	65	10516	10531	994
612272	1508	1523	TCTCAGTGAAGGGCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10519	10534	995
612273	1511	1526	CGCTCTCAGTGAAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	35	10522	10537	996
612274	1524	1539	AGCAGCAGGCAGGCGC	ekkkkkkkkkkkkkke	77	10535	10550	997
612275	1528	1543	GATCAGCAGCAGGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	64	10539	10554	998
612276	1532	1547	GCTGGATCAGCAGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	33	10543	10558	999
612277	1535	1550	GAGGCTGGATCAGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	81	10546	10561	1000
612278	1538	1553	AGTGAGGCTGGATCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	79	10549	10564	1001
612279	1541	1556	CATAGTGAGGCTGGAT	ekkkkkkkkkkkkkke	58	10552	10567	1002
612280	1544	1559	AGGCATAGTGAGGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	20	10555	10570	1003
612688	N/A	N/A	CGGCTTACCTTCTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	2483	2498	565
612799	N/A	N/A	AGACACACAGGCCGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10783	10798	1004
612800	N/A	N/A	ACACTAACTGGAGAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	29	10830	10845	1005
612801	N/A	N/A	AGAGGGCGGATTGCAA	ekkkkkkkkkkkkkke	39	10939	10954	1006

【 0 4 9 3 】

10

20

30

40

【表 6 - 5】

612802	N/A	N/A	CAGAGGGCGGATTGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	37	10940	10955	1007
612803	N/A	N/A	TCTCAGAGGGCGGATT	ekkkkkkkkkkkkkke	36	10943	10958	1008
612804	N/A	N/A	CTCTCAGAGGGCGGAT	ekkkkkkkkkkkkkke	55	10944	10959	1009
612805	N/A	N/A	TCTCTCAGAGGGCGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	34	10945	10960	1010
612806	N/A	N/A	GCTGTGTGTCAGGTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	71	10977	10992	1011
612807	N/A	N/A	AAGAAGCTCTTGATG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	11003	11018	1012
612808	N/A	N/A	TCCAAGAAGCTCTTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	52	11006	11021	1013
612809	N/A	N/A	CCAGCCGCCAGCCGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	28	11109	11124	1014
612810	N/A	N/A	TTAGTGTTTCAGCAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	69	11451	11466	1015
612811	N/A	N/A	AGTTAGTGTTTCAGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	35	11453	11468	1016
612812	N/A	N/A	AACCTCGAGGACATCG	ekkkkkkkkkkkkkke	37	11506	11521	1017
612813	N/A	N/A	ACTTATAAGAGCTGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	7	11696	11711	1018
612814	N/A	N/A	AGCACTTATAAGAGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	21	11699	11714	1019
612815	N/A	N/A	GCAGTGTTCTTGATGA	ekkkkkkkkkkkkkke	27	11866	11881	1020
612816	N/A	N/A	ACAGCAGTGTTCTTGA	ekkkkkkkkkkkkkke	67	11869	11884	1021
612817	N/A	N/A	ATAATGCACTGTGTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	57	11895	11910	1022
612818	N/A	N/A	GATGAGGACCTAGGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	48	11996	12011	1023
612819	N/A	N/A	CCGATGAGGACCTAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	67	11998	12013	1024
612820	N/A	N/A	ACGACAGGGATGTTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	21	12128	12143	1025
612821	N/A	N/A	GGTCAGGCACAGACAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	12398	12413	1026
612822	N/A	N/A	ATCCCGGTTTCAACTC	ekkkkkkkkkkkkkke	45	12671	12686	1027
612823	N/A	N/A	TCCCGCTGGCCCCCGT	ekkkkkkkkkkkkkke	21	12866	12881	1028
612824	N/A	N/A	CTAACTTAGCACAGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	13	12888	12903	1029
612825	N/A	N/A	CCATGGCCCAACAGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	44	12915	12930	1030
612826	N/A	N/A	TTGGCCATGGCCCAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	30	12919	12934	1031
612827	N/A	N/A	GGCAGAATTCCTGGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	12938	12953	1032
612828	N/A	N/A	GCAAGGGTGTGTCTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	13	13059	13074	1033
612829	N/A	N/A	GGCAAGGGTGTGTCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	23	13060	13075	1034
612830	N/A	N/A	CTCAGTGTAGGCAAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	60	13069	13084	1035
612831	N/A	N/A	GAGGATGCACAGTGTA	ekkkkkkkkkkkkkke	12	13094	13109	1036
612832	N/A	N/A	GCTCAGGACCTCTGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	22	13151	13166	1037
612833	N/A	N/A	GGCTCAGGACCTCTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	34	13152	13167	1038
612834	N/A	N/A	GGCGCACTGGGTGACC	ekkkkkkkkkkkkkke	38	13198	13213	1039
612835	N/A	N/A	TCTGAGGGCGCACTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	9	13204	13219	1040
612836	N/A	N/A	TCATTCTGAGGGCGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	1	13208	13223	1041
612838	N/A	N/A	GCTCCTACCGGGGAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	33	10636	10651	1042
612839	N/A	N/A	ACACATACCTCCCCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	12376	12391	1043
612840	N/A	N/A	CGCATACCCTGAAATA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	5715	5730	1044
612842	N/A	N/A	GGATGGTCCTGGGGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	13	12231	12246	1045
612843	N/A	N/A	TTCAGCACCTGCAAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13239	13254	1046
612844	N/A	N/A	CCGGCTTACCTTCTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	9	2484	2499	1047

【 0 4 9 4 】

【表 6 - 6】

612845	N/A	N/A	CCCCCGGCTTACCTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	2487	2502	1048
612846	N/A	N/A	GGGCCCCCGGCTTACC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	2490	2505	1049
612847	N/A	N/A	GTGAATGTGAGCCCCG	ekkkkkkkkkkkkkke	14	3361	3376	1050
612848	N/A	N/A	TCCCTCCTTATAACCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	3435	3450	1051
612849	N/A	N/A	CCGGGCACTCTCAACT	ekkkkkkkkkkkkkke	4	3471	3486	1052
612850	N/A	N/A	AGTAATGGTGCTCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	4	3752	3767	1053
612851	N/A	N/A	TCCTGGGAGTAATGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	30	3759	3774	1054
612852	N/A	N/A	TCTCAGTTGTGATCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	31	3817	3832	1055
612853	N/A	N/A	TCCAGAGACGCAATTC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	3868	3883	1056
612854	N/A	N/A	TCTCCAGAGACGCAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	11	3870	3885	1057
612855	N/A	N/A	ACCTGTGGGAACCGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	4	3983	3998	1058
612856	N/A	N/A	AAACCTGTGGGAACCG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	3985	4000	1059
612857	N/A	N/A	CCTAGATTTTCTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	27	4340	4355	1060
612858	N/A	N/A	GCCTTTTCTGTCCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	57	4420	4435	1061
612859	N/A	N/A	CATTTCTGTGGAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	12	4464	4479	1062
612860	N/A	N/A	TGGGCTGGCCCTGCTA	ekkkkkkkkkkkkkke	2	4569	4584	1063
612861	N/A	N/A	GAGCCCCAAAGGCATG	ekkkkkkkkkkkkkke	33	4822	4837	1064
612862	N/A	N/A	TCTAATATGACCTGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	43	5357	5372	1065
612863	N/A	N/A	TGATCTAATATGACCT	ekkkkkkkkkkkkkke	13	5360	5375	1066
612864	N/A	N/A	GTCCTCAACCCACAGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	5455	5470	1067
612865	N/A	N/A	GCTCCATGGAAAATAT	ekkkkkkkkkkkkkke	4	5553	5568	1068
612866	N/A	N/A	TCCATTCTGTCTACA	ekkkkkkkkkkkkkke	19	5593	5608	1069
612867	N/A	N/A	TTAAGTGCCATCTAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	17	5660	5675	1070
612868	N/A	N/A	GCATACCTGAAATAT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	5714	5729	1071
612893	N/A	N/A	TGTCTACTCCCCACCC	ekkkkkkkkkkkkkke	42	10707	10722	1072
612894	N/A	N/A	ACAGACACTAACTGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	28	10834	10849	1073
612895	N/A	N/A	GTGTGTCAGGTGTGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	37	10974	10989	1074
612896	N/A	N/A	GCAAGTCAGTTCCAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	35	11016	11031	1075
612897	N/A	N/A	CTCGAAAATGGTTACG	ekkkkkkkkkkkkkke	55	11336	11351	1076
612898	N/A	N/A	GGTGGTAACCATATGC	ekkkkkkkkkkkkkke	53	11583	11598	1077
612899	N/A	N/A	ATGCACTGTGTCTTAC	ekkkkkkkkkkkkkke	31	11892	11907	1078
612900	N/A	N/A	AATAATGCACTGTGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	39	11896	11911	1079
612901	N/A	N/A	GTTACTTGGGTAATTT	ekkkkkkkkkkkkkke	68	11930	11945	1080
612902	N/A	N/A	TCCTTTGGTGCAATTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	19	11974	11989	1081
612903	N/A	N/A	CTAGGAATGGTTGTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	11987	12002	1082
612904	N/A	N/A	GACGACAGGGATGTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	20	12129	12144	1083
612905	N/A	N/A	CTGACGACAGGGATGT	ekkkkkkkkkkkkkke	25	12131	12146	1084
612906	N/A	N/A	GCACAGTTAGGAAGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	60	12210	12225	1085
612907	N/A	N/A	TTAGCTAACTTAGCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	8	12892	12907	1086
612908	N/A	N/A	CATGGCCCACCAAGTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	41	12914	12929	1087
612909	N/A	N/A	CACAGTGTATGCCTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	52	13087	13102	1088

【 0 4 9 5】

【表 6 - 7】

612910	N/A	N/A	GCACTGGGTGACCCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13195	13210	1089
612911	N/A	N/A	TCAGCACCTGCAAAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13238	13253	1090

10

20

30

40

50

【0496】

表6は、20,000細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して1000nMのアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトしたHepG2細胞中でのAGT mRNA阻害を示す。約24時間の処置期間後、RNAを細胞から単離し、AGT mRNAレベルを定量リアルタイムPCRによって測定した。ヒトプライマープローブセットRTS4039（本明細書において配列番号11として示されるフォワード配列GGACAAAGGTGGAGGGTCTCA；本明細書において配列番号12として示されるリバーズ配列AGATCCCTTGCAAGCACCAAGTTG；及び本明細書において配列番号13として示されるプローブ配列ATGAAGAAACTATCTCCCCGGACCATCCAX（配列中、Xは蛍光標識である））を使用してmRNAレベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定した全RNA含量に従ってAGT mRNAレベルを調整した。無処置の対照細胞に対するAGTの阻害率（%）として結果を示す。

【0497】

【表 7 - 1】

表 6

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする M O E 及び／または c E t 含有ギャップマーによる A G T m R N A 阻害

ISIS 番号	配列 番号 1 開 始部 位	配列 番号 1 終 止部 位	配列	化学的構造	阻害率 (%)	配列 番号 2 開 始部 位	配列 番号 2: 終 止部 位	配列 番号
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekkkkkkkkkkkkk	74	13515	13530	129
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkkkkkkkkkkkkkk	64	13496	13511	163
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkkkkkkkkkkkkkk	57	13516	13531	165
612205	1279	1294	CTTCCATCCTGTCACA	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	6496	6511	957
612206	1282	1297	AGTCTTCCATCCTGTC	ekkkkkkkkkkkkkkk	9	6499	6514	958
612207	1286	1301	AGCCAGTCTTCCATCC	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	6503	6518	959
612208	1290	1305	GAGCAGCCAGTCTTCC	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	6507	6522	1091
612209	1293	1308	AGGGAGCAGCCAGTCT	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	6510	6525	1092
612210	1296	1311	ATCAGGGAGCAGCCAG	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	6513	6528	1093
612211	1300	1315	TCCCATCAGGGAGCAG	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	6517	6532	1094
612212	1303	1318	GGCTCCCATCAGGGAG	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	6520	6535	1095
612213	1306	1321	ACTGGCTCCCATCAGG	ekkkkkkkkkkkkkkk	16	6523	6538	1096
612214	1310	1325	CCACACTGGCTCCCAT	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	6527	6542	1097
612215	1315	1330	GCTGTCCACACTGGCT	ekkkkkkkkkkkkkkk	13	6532	6547	1098
612216	1318	1333	GGTGTGTCCACACTG	ekkkkkkkkkkkkkkk	20	6535	6550	1099
612217	1321	1336	CAGGGTGCTGTCCACA	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	6538	6553	1100
612218	1324	1339	AGCCAGGGTGCTGTCC	ekkkkkkkkkkkkkkk	14	6541	6556	1101
612219	1327	1342	GAAAGCCAGGGTGCTG	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	6544	6559	1102
612220	1330	1345	GTTGAAAGCCAGGGTG	ekkkkkkkkkkkkkkk	6	6547	6562	1103
612221	1333	1348	GGTGTGAAAGCCAGG	ekkkkkkkkkkkkkkk	34	6550	6565	1104
612222	1336	1351	GTAGGTGTTGAAAGCC	ekkkkkkkkkkkkkkk	9	6553	6568	1105
612223	1351	1366	CCCTTGGAAGTGACG	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	N/A	N/A	1106
612224	1354	1369	CTTCCCTTGGAAGTGG	ekkkkkkkkkkkkkkk	17	N/A	N/A	1107
612225	1357	1372	CATCTTCCCTTGGAAG	ekkkkkkkkkkkkkkk	11	N/A	N/A	1108
612226	1360	1375	CTTCATCTTCCCTTGG	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	N/A	N/A	1109
612227	1364	1379	AGCCCTTCATCTTCCC	ekkkkkkkkkkkkkkk	5	10375	10390	1110
612228	1367	1382	AGAAGCCCTTCATCTT	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	10378	10393	1111
612229	1370	1385	GGGAGAAGCCCTTCAT	ekkkkkkkkkkkkkkk	0	10381	10396	1112
612230	1373	1388	GCAGGGAGAAGCCCTT	ekkkkkkkkkkkkkkk	25	10384	10399	1113

【 0 4 9 8 】

【表 7 - 2】

612231	1380	1395	TCGGCCAGCAGGGAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	32	10391	10406	1114
612232	1383	1398	GGCTCGGCCAGCAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	24	10394	10409	1115
612233	1399	1414	CACCCAGAACTCCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	5	10410	10425	960
612234	1402	1417	GTCCACCCAGAACTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10413	10428	961
612235	1405	1420	GTTGTCCACCCAGAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10416	10431	962
612236	1408	1423	GCTGTTGTCCACCCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	14	10419	10434	963
612237	1411	1426	GGTGTCTGTTGTCCACC	ekkkkkkkkkkkkkke	20	10422	10437	964
612238	1414	1429	TGAGGTGCTGTTGTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	32	10425	10440	965
612239	1417	1432	CACTGAGGTGCTGTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	36	10428	10443	966
612240	1421	1436	CAGACACTGAGGTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	1	10432	10447	93
612241	1429	1444	CATGGGAACAGACACT	ekkkkkkkkkkkkkke	9	10440	10455	967
612242	1432	1447	GAGCATGGGAACAGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10443	10458	968
612243	1435	1450	AGAGAGCATGGGAACA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10446	10461	969
612244	1438	1453	GCCAGAGAGCATGGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	5	10449	10464	970
612245	1441	1456	CATGCCAGAGAGCATG	ekkkkkkkkkkkkkke	27	10452	10467	971
612246	1444	1459	GCCCATGCCAGAGAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10455	10470	972
612247	1447	1462	GGTGCCCATGCCAGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	36	10458	10473	973
612248	1450	1465	GAAGGTGCCCATGCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10461	10476	974
612249	1453	1468	CTGGAAGGTGCCCATG	ekkkkkkkkkkkkkke	24	10464	10479	975
612250	1457	1472	AGTGCTGGAAGGTGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10468	10483	976
612251	1460	1475	TCCAGTGCTGGAAGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	3	10471	10486	977
612252	1462	1477	ACTCCAGTGCTGGAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	72	10473	10488	96
612253	1463	1478	CACTCCAGTGCTGGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	19	10474	10489	978
612254	1465	1480	GTCACTCCAGTGCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	45	10476	10491	97
612255	1466	1481	TGTCACTCCAGTGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	15	10477	10492	979
612256	1467	1482	ATGTCACTCCAGTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10478	10493	980
612257	1468	1483	GATGTCACTCCAGTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	16	10479	10494	981
612258	1469	1484	GGATGTCACTCCAGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10480	10495	982
612259	1470	1485	TGGATGTCACTCCAGT	ekkkkkkkkkkkkkke	3	10481	10496	983
612260	1472	1487	CCTGGATGTCACTCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	10	10483	10498	984
612261	1475	1490	TGTCCTGGATGTCACT	ekkkkkkkkkkkkkke	8	10486	10501	985
612262	1478	1493	AGTTGTCCTGGATGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10489	10504	986
612263	1481	1496	AGAAGTTGTCCTGGAT	ekkkkkkkkkkkkkke	14	10492	10507	987
612264	1484	1499	CCGAGAAGTTGTCCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	10	10495	10510	99
612265	1487	1502	TCACCGAGAAGTTGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10498	10513	988
612266	1490	1505	GAGTCACCGAGAAGTT	ekkkkkkkkkkkkkke	33	10501	10516	989
612267	1493	1508	CTTGAGTCACCGAGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	35	10504	10519	990
612268	1496	1511	GCACTTGAGTCACCGA	ekkkkkkkkkkkkkke	37	10507	10522	991
612269	1499	1514	AGGGCACTTGAGTCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10510	10525	992
612270	1502	1517	TGAAGGGCACTTGAGT	ekkkkkkkkkkkkkke	8	10513	10528	993
612271	1505	1520	CAGTGAAGGGCACTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	8	10516	10531	994

【 0 4 9 9 】

【表 7 - 3】

612272	1508	1523	TCTCAGTGAAGGGCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10519	10534	995
612273	1511	1526	CGCTCTCAGTGAAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	18	10522	10537	996
612274	1524	1539	AGCAGCAGGCAGGCGC	ekkkkkkkkkkkkkke	27	10535	10550	997
612275	1528	1543	GATCAGCAGCAGGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	39	10539	10554	998
612276	1532	1547	GCTGGATCAGCAGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	21	10543	10558	999
612277	1535	1550	GAGGCTGGATCAGCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	34	10546	10561	1000
612278	1538	1553	AGTGAGGCTGGATCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	28	10549	10564	1001
612279	1541	1556	CATAGTGAGGCTGGAT	ekkkkkkkkkkkkkke	13	10552	10567	1002
612280	1544	1559	AGGCATAGTGAGGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10555	10570	1003

10

【0500】

表 7 は、20,000 細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用し、1000 nM のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした Hep G2 細胞中での AGT mRNA 阻害を示す。約 24 時間の処置期間後、RNA を細胞から単離し、AGT mRNA レベルを定量リアルタイム PCR によって測定した。ヒトプライマープロブセット RTS4039 を使用して mRNA レベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定した全 RNA 含量に従って AGT mRNA レベルを調整した。無処置の対照細胞に対する AGT の阻害率（％）として結果を示す。

【0501】

20

【表 8 - 1】

表 7

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする M O E 及び／または c E t 含有ギャップマーによる A G T m R N A 阻害

ISIS 番号	配列 番号 1 開 始部 位	配列 番号 1 終 止部 位	配列	化学的構造	阻害率 (%)	配列 番号 2 開 始部 位	配列 番号 2: 終 止部 位	配列 番号
568637	2046	2061	CGCTGATTGTCCGGG	eeekkkkkkkkkkkke	93	13515	13530	129
568637	2046	2061	CGCTGATTGTCCGGG	eeekkkkkkkkkkkke	90	13515	13530	129
568637	2046	2061	CGCTGATTGTCCGGG	eeekkkkkkkkkkkke	84	13515	13530	129
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkkkkkkkkkkkkkk	86	13496	13511	163
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkkkkkkkkkkkkkk	85	13496	13511	163
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkkkkkkkkkkkkkk	5	13496	13511	163
594625	2047	2062	TCGCTGATTGTCCGG	kkkkkkkkkkkkkkkk	75	13516	13531	165
594625	2047	2062	TCGCTGATTGTCCGG	kkkkkkkkkkkkkkkk	70	13516	13531	165
594625	2047	2062	TCGCTGATTGTCCGG	kkkkkkkkkkkkkkkk	0	13516	13531	165
612129	965	980	GCCTGTCAGCTGTGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	35	6182	6197	889
612130	968	983	GTAGCCTGTCAGCTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	35	6185	6200	890
612131	971	986	CCTGTAGCCTGTCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	30	6188	6203	891
612132	974	989	TTGCCTGTAGCCTGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	37	6191	6206	892
612133	977	992	GGATTGCCTGTAGCCT	ekkkkkkkkkkkkkke	30	6194	6209	893
612134	980	995	CCAGGATTGCCTGTAG	ekkkkkkkkkkkkkke	56	6197	6212	894
612135	983	998	CACCCAGGATTGCCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6200	6215	68
612136	986	1001	GAACACCCAGGATTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	8	6203	6218	895
612137	993	1008	TTCCAAGGAACACCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	27	6210	6225	69
612138	997	1012	GTCCTTCCAAGGAACA	ekkkkkkkkkkkkkke	26	6214	6229	896
612139	1000	1015	CTTGTCCTTCCAAGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	47	6217	6232	897
612140	1003	1018	GTTCTTGTCTTCCAA	ekkkkkkkkkkkkkke	36	6220	6235	898
612141	1006	1021	GCAGTTCTTGTCTTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	28	6223	6238	899
612142	1009	1024	GGTGCAGTTCTTGTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	13	6226	6241	900
612143	1012	1027	GGAGGTGCAGTTCTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6229	6244	901

【 0 5 0 2 】

【表 8 - 2】

612144	1015	1030	CCGGGAGGTGCAGTTC	ekkdddddddddkke	27	6232	6247	902
612145	1018	1033	CAGCCGGGAGGTGCAG	ekkdddddddddkke	39	6235	6250	903
612146	1021	1036	ATCCAGCCGGGAGGTG	ekkdddddddddkke	24	6238	6253	904
612147	1024	1039	CGCATCCAGCCGGGAG	ekkdddddddddkke	55	6241	6256	905
612148	1027	1042	GTGCGCATCCAGCCGG	ekkdddddddddkke	37	6244	6259	906
612149	1030	1045	CTGTGCGCATCCAGC	ekkdddddddddkke	11	6247	6262	907
612150	1033	1048	GACCTTGTGCGCATCC	ekkdddddddddkke	12	6250	6265	908
612151	1036	1051	CAGGACCTTGTGCGCA	ekkdddddddddkke	41	6253	6268	909
612152	1039	1054	AGACAGGACCTTGTGC	ekkdddddddddkke	9	6256	6271	910
612153	1042	1057	GGCAGACAGGACCTTG	ekkdddddddddkke	30	6259	6274	911
612154	1060	1075	GCCCTGTACAGCCTGC	ekkdddddddddkke	19	6277	6292	912
612155	1064	1079	GCAGGCCCTGTACAGC	ekkdddddddddkke	0	6281	6296	913
612156	1067	1082	CTAGCAGGCCCTGTAC	ekkdddddddddkke	21	6284	6299	914
612157	1071	1086	GCCACTAGCAGGCCCT	ekkdddddddddkke	0	6288	6303	915
612158	1074	1089	TGGGCCACTAGCAGGC	ekkdddddddddkke	13	6291	6306	916
612159	1077	1092	CCCTGGGCCACTAGCA	ekkdddddddddkke	23	6294	6309	917
612160	1080	1095	CTGCCCTGGGCCACTA	ekkdddddddddkke	28	6297	6312	918
612161	1088	1103	TATCAGCCCTGCCCTG	ekkdddddddddkke	0	6305	6320	74
612162	1091	1106	GGCTATCAGCCCTGCC	ekkdddddddddkke	27	6308	6323	919
612163	1094	1109	CCTGGCTATCAGCCCT	ekkdddddddddkke	13	6311	6326	920
612164	1097	1112	GGGCTGGCTATCAGC	ekkdddddddddkke	3	6314	6329	921
612165	1100	1115	GCTGGGCCTGGCTATC	ekkdddddddddkke	10	6317	6332	922
612166	1115	1130	CCGTGGACAGCAGCAG	ekkdddddddddkke	12	6332	6347	923
612167	1118	1133	CCACCGTGGACAGCAG	ekkdddddddddkke	42	6335	6350	924
612168	1121	1136	CCACCACCGTGGACAG	ekkdddddddddkke	27	6338	6353	925
612169	1124	1139	CGCCCACCACCGTGA	ekkdddddddddkke	29	6341	6356	926
612170	1127	1142	ACACGCCACCACCGT	ekkdddddddddkke	9	6344	6359	927
612171	1130	1145	TGAACACGCCACCAC	ekkdddddddddkke	25	6347	6362	928
612172	1133	1148	CTGTGAACACGCCAC	ekkdddddddddkke	32	6350	6365	929
612173	1136	1151	GGGCTGTGAACACGCC	ekkdddddddddkke	0	6353	6368	930
612174	1151	1166	TCAGGTGCAGGCCTGG	ekkdddddddddkke	8	6368	6383	78
612175	1154	1169	GCTTCAGGTGCAGGCC	ekkdddddddddkke	30	6371	6386	931
612176	1157	1172	GCTGCTTCAGGTGCAG	ekkdddddddddkke	21	6374	6389	932
612177	1160	1175	ACGGCTGCTTCAGGTG	ekkdddddddddkke	46	6377	6392	933
612178	1163	1178	CAAACGGCTGCTTCAG	ekkdddddddddkke	7	6380	6395	934
612179	1166	1181	GCACAAACGGCTGCTT	ekkdddddddddkke	31	6383	6398	935
612180	1169	1184	CCTGCACAAACGGCTG	ekkdddddddddkke	10	6386	6401	936
612181	1172	1187	GGCCTGCACAAACGG	ekkdddddddddkke	5	6389	6404	937
612182	1182	1197	TAGAGAGCCAGGCCCT	ekkdddddddddkke	29	6399	6414	80
612183	1185	1200	GTATAGAGAGCCAGGC	ekkdddddddddkke	0	6402	6417	938
612184	1203	1218	CGTGGGAGGACCACAG	ekkdddddddddkke	16	6420	6435	81
612185	1217	1232	TGAAGTCCAGAGAGCG	ekkdddddddddkke	27	6434	6449	82
612186	1220	1235	CTGTGAAGTCCAGAGA	ekkdddddddddkke	26	6437	6452	939

【 0 5 0 3 】

10

20

30

40

【表 8 - 3】

612187	1223	1238	GTTCTGTGAAGTCCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	44	6440	6455	940
612188	1226	1241	CCAGTTCTGTGAAGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	29	6443	6458	941
612189	1229	1244	CATCCAGTTCTGTGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	14	6446	6461	942
612190	1232	1247	CAACATCCAGTTCTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6449	6464	943
612191	1235	1250	CAGCAACATCCAGTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	24	6452	6467	944
612192	1244	1259	TCTTCTCAGCAGCAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	62	6461	6476	84
612193	1247	1262	CAATCTTCTCAGCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	27	6464	6479	945
612194	1250	1265	TGTCAATCTTCTCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	18	6467	6482	946
612195	1253	1268	ACCTGTCAATCTTCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	33	6470	6485	947
612196	1256	1271	TGAACCTGTCAATCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	25	6473	6488	948
612197	1259	1274	GCATGAACCTGTCAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	27	6476	6491	949
612198	1262	1277	CCTGCATGAACCTGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	15	6479	6494	950
612199	1265	1280	CAGCCTGCATGAACCT	ekkkkkkkkkkkkkke	42	6482	6497	951
612200	1267	1282	CACAGCCTGCATGAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	39	6484	6499	952
612201	1268	1283	TCACAGCCTGCATGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	27	6485	6500	953
612202	1274	1289	ATCCTGTACAGCCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	44	6491	6506	954
612203	1276	1291	CCATCCTGTACAGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	39	6493	6508	955
612204	1277	1292	TCCATCCTGTACAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	27	6494	6509	956
612688	N/A	N/A	CGGCTTACCTTCTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	7	2483	2498	565
612761	N/A	N/A	CGAAGGGAGACCCATT	ekkkkkkkkkkkkkke	24	8270	8285	1116
612762	N/A	N/A	TTCGAAGGGAGACCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	9	8272	8287	1117
612763	N/A	N/A	CTTTCGAAGGGAGACC	ekkkkkkkkkkkkkke	12	8274	8289	1118
612764	N/A	N/A	CCGATCTCCTCACTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	9	8497	8512	1119
612765	N/A	N/A	CCCCGATCTCCTCACT	ekkkkkkkkkkkkkke	6	8499	8514	1120
612766	N/A	N/A	ACAGCCCCCGATCTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	35	8504	8519	1121
612767	N/A	N/A	GAGACAGCCCCCGATC	ekkkkkkkkkkkkkke	3	8507	8522	1122
612768	N/A	N/A	CCGAGACAGCCCCCGA	ekkkkkkkkkkkkkke	7	8509	8524	1123
612769	N/A	N/A	CTAGCTGCCTGCTGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	27	8569	8584	1124
612770	N/A	N/A	TCTAGCTGCCTGCTGA	ekkkkkkkkkkkkkke	22	8570	8585	1125
612771	N/A	N/A	GTGGGACACATCTAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	16	8580	8595	1126
612772	N/A	N/A	TCTAGTGGGACACATC	ekkkkkkkkkkkkkke	27	8584	8599	1127
612773	N/A	N/A	TCTCTAGTGGGACACA	ekkkkkkkkkkkkkke	17	8586	8601	1128
612774	N/A	N/A	CATGAGAGTGGCTGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	29	8789	8804	1129
612775	N/A	N/A	CTTTTAGTTTAGAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	25	8883	8898	1130
612776	N/A	N/A	ATGTGAGCGGGAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	16	8961	8976	1131
612777	N/A	N/A	CATGTGAGCGGGAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	38	8962	8977	1132
612778	N/A	N/A	CGGAGCACTCAGTCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	38	8985	9000	1133
612779	N/A	N/A	GTCCTCAGTCCTCGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	8	8997	9012	1134
612780	N/A	N/A	CGTCTCAGTCCTCGG	ekkkkkkkkkkkkkke	53	8998	9013	1135
612781	N/A	N/A	GCAGTGGCAGACCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	23	9023	9038	1136
612782	N/A	N/A	TAGAGATGGTTCAGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	13	9166	9181	1137
612783	N/A	N/A	TGAGTAGAGATGGTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	25	9170	9185	1138
612784	N/A	N/A	GGAGTCTGAGTAGAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	21	9176	9191	1139

【 0 5 0 4 】

【表 8 - 4】

612785	N/A	N/A	GCCCTCGGCTGTCTCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	24	9294	9309	1140
612786	N/A	N/A	CTCGACCTTACACTAG	ekkkkkkkkkkkkkke	29	9319	9334	1141
612787	N/A	N/A	CCTCTGCCTCGACCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	49	9326	9341	1142
612788	N/A	N/A	AACTCGGGAGAGCCCG	ekkkkkkkkkkkkkke	41	9410	9425	1143
612789	N/A	N/A	AACGAGGGCTCCATTC	ekkkkkkkkkkkkkke	22	9557	9572	1144
612790	N/A	N/A	GACACACTCACTTTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	25	9999	10014	1145
612791	N/A	N/A	CTGCCAGGTCAACTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	39	10050	10065	1146
612792	N/A	N/A	GTACCTGCCAGGTCAA	ekkkkkkkkkkkkkke	25	10054	10069	1147
612793	N/A	N/A	CTGGTACCTGCCAGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	32	10057	10072	1148
612794	N/A	N/A	AGTTCAGTGAAGCAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	37	10156	10171	1149
612795	N/A	N/A	CCATTTGAGTTCACTG	ekkkkkkkkkkkkkke	61	10163	10178	1150
612796	N/A	N/A	GCAGCCATTTGAGTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	42	10167	10182	1151
612797	N/A	N/A	AAGGCCAGATCCTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10286	10301	1152
612798	N/A	N/A	GAAATCCAGACAGGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	11	10358	10373	1153
612821	N/A	N/A	GGTCAGGCACAGACAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	12398	12413	1026
612822	N/A	N/A	ATCCCGGTTTCAACTC	ekkkkkkkkkkkkkke	14	12671	12686	1027
612823	N/A	N/A	TCCCGCTGGCCCCCGT	ekkkkkkkkkkkkkke	36	12866	12881	1028
612824	N/A	N/A	CTAACTTAGCACAGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	22	12888	12903	1029
612825	N/A	N/A	CCATGGGCCACCACTG	ekkkkkkkkkkkkkke	35	12915	12930	1030
612826	N/A	N/A	TTGGCCATGGCCCACC	ekkkkkkkkkkkkkke	23	12919	12934	1031
612827	N/A	N/A	GGCAGAATTCCTGGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	12938	12953	1032
612828	N/A	N/A	GCAAGGGTGTGTCTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	23	13059	13074	1033
612829	N/A	N/A	GGCAAGGGTGTGTCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	29	13060	13075	1034
612830	N/A	N/A	CTCAGTGTAGGCAAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	37	13069	13084	1035
612831	N/A	N/A	GAGGATGCACAGTGTA	ekkkkkkkkkkkkkke	15	13094	13109	1036
612832	N/A	N/A	GCTCAGGACCTCTGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	20	13151	13166	1037
612833	N/A	N/A	GGCTCAGGACCTCTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	48	13152	13167	1038
612834	N/A	N/A	GGCGCACTGGGTGACC	ekkkkkkkkkkkkkke	32	13198	13213	1039
612835	N/A	N/A	TCTGAGGGCGCACTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	24	13204	13219	1040
612836	N/A	N/A	TCATTCTGAGGGCGCA	ekkkkkkkkkkkkkke	18	13208	13223	1041
612837	N/A	N/A	TGCCTTACCTTGAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	1	6574	6589	1154
612839	N/A	N/A	ACACATACCTCCCCCA	ekkkkkkkkkkkkkke	4	12376	12391	1043
612840	N/A	N/A	CGCATACCCTGAAATA	ekkkkkkkkkkkkkke	1	5715	5730	1044
612841	N/A	N/A	CATCTTCCCTGAAATC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10368	10383	1155
612843	N/A	N/A	TTCAGCACCTGCAAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13239	13254	1046
612844	N/A	N/A	CCGGCTTACCTTCTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	21	2484	2499	1047
612845	N/A	N/A	CCCCCGGCTTACCTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	2487	2502	1048
612846	N/A	N/A	GGGCCCCCGGCTTACC	ekkkkkkkkkkkkkke	9	2490	2505	1049
612847	N/A	N/A	GTGAATGTGAGCCCCG	ekkkkkkkkkkkkkke	9	3361	3376	1050
612848	N/A	N/A	TCCCTCCTTATAACCC	ekkkkkkkkkkkkkke	5	3435	3450	1051
612849	N/A	N/A	CCGGGCACTCTCAACT	ekkkkkkkkkkkkkke	6	3471	3486	1052
612850	N/A	N/A	AGTAATGGTGTCTCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	13	3752	3767	1053
612851	N/A	N/A	TCCTGGGAGTAATGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	16	3759	3774	1054

【 0 5 0 5 】

10

20

30

40

【表 8 - 5】

612852	N/A	N/A	TCTCAGTTGTGATCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	19	3817	3832	1055
612853	N/A	N/A	TCCAGAGACGCAATTC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	3868	3883	1056
612854	N/A	N/A	TCTCCAGAGACGCAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	15	3870	3885	1057
612855	N/A	N/A	ACCTGTGGGAACCGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	17	3983	3998	1058
612856	N/A	N/A	AAACCTGTGGGAACCG	ekkkkkkkkkkkkkke	7	3985	4000	1059
612857	N/A	N/A	CCTAGATTTTCTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	15	4340	4355	1060
612858	N/A	N/A	GCCTTTTCTGTCCCC	ekkkkkkkkkkkkkke	24	4420	4435	1061
612859	N/A	N/A	CATTTCTTGTGGAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	3	4464	4479	1062
612860	N/A	N/A	TGGGCTGGCCCTGCTA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	4569	4584	1063
612861	N/A	N/A	GAGCCCCAAAGGCATG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	4822	4837	1064
612862	N/A	N/A	TCTAATATGACCTGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	25	5357	5372	1065
612863	N/A	N/A	TGATCTAATATGACCT	ekkkkkkkkkkkkkke	6	5360	5375	1066
612864	N/A	N/A	GTCCTCAACCCAGGA	ekkkkkkkkkkkkkke	9	5455	5470	1067
612865	N/A	N/A	GCTCCATGGAATAT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	5553	5568	1068
612866	N/A	N/A	TCCATTCATGTCTACA	ekkkkkkkkkkkkkke	11	5593	5608	1069
612867	N/A	N/A	TTAAGTGCCATCTAAC	ekkkkkkkkkkkkkke	23	5660	5675	1070
612868	N/A	N/A	GCATACCCTGAAATAT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	5714	5729	1071
612869	N/A	N/A	AGGTATGTCCGAGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	35	6679	6694	1156
612870	N/A	N/A	TAGTAGGGCAGCAGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	7	6765	6780	1157
612871	N/A	N/A	TTGTTTCTCCGAGTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	42	6879	6894	1158
612872	N/A	N/A	AGGCACTTTGTTTCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	5	6886	6901	1159
612873	N/A	N/A	CAAGGCACTTGTTTC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6888	6903	1160
612874	N/A	N/A	TAGAACTGGGCTGTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	6962	6977	1161
612875	N/A	N/A	CCCTCCTAACATGAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	7071	7086	1162
612876	N/A	N/A	CTTACAAGTAGCAAAT	ekkkkkkkkkkkkkke	11	7332	7347	1163
612877	N/A	N/A	GCCAGGCTTAAAGTCT	ekkkkkkkkkkkkkke	10	7346	7361	1164
612878	N/A	N/A	ATTGACCTTTAAAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	5	7407	7422	1165
612879	N/A	N/A	TCTGGTTCAACACTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	39	7640	7655	1166
612880	N/A	N/A	TTCCCGTGA CTGTGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	25	7813	7828	1167
612881	N/A	N/A	CGAGCTGCTCCCTGAG	ekkkkkkkkkkkkkke	15	7835	7850	1168
612882	N/A	N/A	CACCCACCCATGGAT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	7855	7870	1169
612883	N/A	N/A	TCTCTGTCCCTCACGA	ekkkkkkkkkkkkkke	20	7925	7940	1170
612884	N/A	N/A	TTTCGAAGGAGACCC	ekkkkkkkkkkkkkke	9	8273	8288	1171
612885	N/A	N/A	CATCTAGCTGCCTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	8572	8587	1172
612886	N/A	N/A	TGGGACACATCTAGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	9	8579	8594	1173
612887	N/A	N/A	ATCCTCAGGTCTCTC	ekkkkkkkkkkkkkke	14	8598	8613	1174
612888	N/A	N/A	ATGGTTCAGAAACAGT	ekkkkkkkkkkkkkke	28	9161	9176	1175
612889	N/A	N/A	GATTTGCACACTGGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	9489	9504	1176
612890	N/A	N/A	CCCCGTGATCAACATC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	9874	9889	1177
612891	N/A	N/A	ATCGAGCAGAAAGTAC	ekkkkkkkkkkkkkke	24	9932	9947	1178
612892	N/A	N/A	ACTGGTACCTGCCAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	10058	10073	1179
612907	N/A	N/A	TTAGCTAACTTAGCAC	ekkkkkkkkkkkkkke	10	12892	12907	1086
612908	N/A	N/A	CATGGCCACCACTGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	13	12914	12929	1087

【 0 5 0 6 】

【表 8－6】

612909	N/A	N/A	CACAGTGTATGCCTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	15	13087	13102	1088
612910	N/A	N/A	GCACTGGGTGACCCAG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13195	13210	1089
612911	N/A	N/A	TCAGCACCTGCAAAGC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13238	13253	1090

【0507】

表 8 は、20,000 細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して 4000 nM のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした Hep G2 細胞中での AGT mRNA 阻害を示す。約 24 時間の処置期間後、RNA を細胞から単離し、AGT mRNA レベルを定量リアルタイム PCR によって測定した。ヒトプライマープロブセット RTS 3721 を使用して mRNA レベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定した全 RNA 含量に従って AGT mRNA レベルを調整した。無処置の対照細胞に対する AGT の阻害率（％）として結果を示す。

10

【0508】

【表 9 - 1】

表 8

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする M O E 含有ギャップマーによる A G
T m R N A 阻害

ISIS番号	配列番号 1 開始部位	配列番号 1 終止部位	配列	化学的構造	阻害率 (%)	配列番号 2 開始部位	配列番号 2 終止部位	配列番号
610015	2049	2068	GACACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddddeeeee	91	13518	13537	239
610015	2049	2068	GACACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddddeeeee	87	13518	13537	239
610015	2049	2068	GACACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddddeeeee	81	13518	13537	239
610015	2049	2068	GACACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddddeeeee	43	13518	13537	239
610015	2049	2068	GACACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddddeeeee	91	13518	13537	239
610015	2049	2068	GACACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddddeeeee	88	13518	13537	239
610015	2049	2068	GACACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddddeeeee	91	13518	13537	239
610015	2049	2068	GACACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddddeeeee	87	13518	13537	239
619461	1	20	CTGCTGCCCGCTCATGGGAT	eeeeeddddddddddeeeee	5	1986	2005	1180
619462	7	26	CTGACCCTGCTGCCCGCTCA	eeeeeddddddddddeeeee	30	1992	2011	1181
619463	13	32	CCACTTCTGACCCTGCTGCC	eeeeeddddddddddeeeee	31	1998	2017	1182
619464	35	54	TCTTGCTTAGGCAACACGGG	eeeeeddddddddddeeeee	31	2020	2039	1183
619465	41	60	GGAGAGTCTTGCTTAGGCAA	eeeeeddddddddddeeeee	16	2026	2045	1184
619466	66	85	GGAGGTGCAGAGGGCAGAGG	eeeeeddddddddddeeeee	5	2051	2070	1185
619467	72	91	CAGGCCGAGGTGCAGAGGG	eeeeeddddddddddeeeee	11	2057	2076	1186
619468	78	97	GACATGCAGGCCGAGGTGC	eeeeeddddddddddeeeee	15	2063	2082	1187
619469	84	103	CACAGGGACATGCAGGCCGG	eeeeeddddddddddeeeee	19	2069	2088	1188
619470	90	109	AGAGGCCACAGGGACATGCA	eeeeeddddddddddeeeee	26	2075	2094	1189
619471	96	115	CCCCCAAGAGGCCACAGGGA	eeeeeddddddddddeeeee	10	2081	2100	1190
619472	102	121	GATGTACCCCAAGAGGCCA	eeeeeddddddddddeeeee	31	2087	2106	1191
619473	108	127	CCGGGAGATGTACCCCAAG	eeeeeddddddddddeeeee	34	2093	2112	1192
619474	114	133	CCAGCCCCGGGAGATGTACC	eeeeeddddddddddeeeee	11	2099	2118	1193
619475	120	139	TCTGACCCAGCCCCGGGAGA	eeeeeddddddddddeeeee	35	2105	2124	1194
619476	126	145	AGGCCTTCTGACCCAGCCCC	eeeeeddddddddddeeeee	21	2111	2130	1195
619477	132	151	CCACCCAGGCCTTCTGACCC	eeeeeddddddddddeeeee	0	2117	2136	1196
619478	138	157	GGCCAACCAACCCAGGCCTTC	eeeeeddddddddddeeeee	31	2123	2142	1197
619479	144	163	GCCTGAGGCCAACCAACCCAG	eeeeeddddddddddeeeee	36	2129	2148	1198
619480	150	169	GTGACAGCCTGAGGCCAACCC	eeeeeddddddddddeeeee	8	2135	2154	1199
619481	156	175	AGGTGTGTGACAGCCTGAGG	eeeeeddddddddddeeeee	45	2141	2160	1200
619482	162	181	CTCCCTAGGTGTGTGACAGC	eeeeeddddddddddeeeee	27	2147	2166	1201
619483	168	187	GAGCATCTCCCTAGGTGTGT	eeeeeddddddddddeeeee	21	2153	2172	1202
619484	174	193	AAACGGGAGCATCTCCCTAG	eeeeeddddddddddeeeee	27	2159	2178	1203
619485	180	199	TCCAGAAACGGGAGCATCT	eeeeeddddddddddeeeee	29	2165	2184	1204
619486	186	205	CAAGGTTCACAGAAACGGGA	eeeeeddddddddddeeeee	0	2171	2190	1205
619487	208	227	CGAAGTTTGACAGGAGTCGGG	eeeeeddddddddddeeeee	27	2193	2212	1206

【 0 5 0 9 】

10

20

30

40

【表 9 - 2】

619488	214	233	ATTACCGAAGTTTGCAGGA	eeeeeddddddddddeeeee	40	2199	2218	1207
619489	220	239	TTACACATTTACCGAAGTTT	eeeeeddddddddddeeeee	10	2205	2224	1208
619490	226	245	GTCGAGTTACACATTTACCG	eeeeeddddddddddeeeee	29	2211	2230	1209
619491	232	251	TGCAGGGTCGAGTTACACAT	eeeeeddddddddddeeeee	24	2217	2236	1210
619492	238	257	AGCCGGTGCAGGGTCGAGTT	eeeeeddddddddddeeeee	20	2223	2242	1211
619493	244	263	AGAGTGAGCCGGTGCAGGGT	eeeeeddddddddddeeeee	20	2229	2248	1212
619494	250	269	CTGAACAGAGTGAGCCGGTG	eeeeeddddddddddeeeee	25	2235	2254	1213
619495	256	275	TCACTGCTGAACAGAGTGAG	eeeeeddddddddddeeeee	41	2241	2260	1214
619496	262	281	AGAGTTTCACTGCTGAACAG	eeeeeddddddddddeeeee	13	2247	2266	1215
619497	268	287	CGATGCAGAGTTTCACTGCT	eeeeeddddddddddeeeee	29	2253	2272	1216
619498	274	293	AGTGATCGATGCAGAGTTTC	eeeeeddddddddddeeeee	28	2259	2278	1217
619499	280	299	AGTCTTAGTGATCGATGCAG	eeeeeddddddddddeeeee	26	2265	2284	1218
619500	286	305	CCAGGAAGTCTTAGTGATCG	eeeeeddddddddddeeeee	26	2271	2290	1219
619501	292	311	CCTCTTCCAGGAAGTCTTAG	eeeeeddddddddddeeeee	28	2277	2296	1220
619502	298	317	CTGGGACCTCTTCCAGGAAG	eeeeeddddddddddeeeee	20	2283	2302	1221
619503	304	323	CTCACGCTGGGACCTCTTCC	eeeeeddddddddddeeeee	12	2289	2308	1222
619504	310	329	GCGACACTCACGCTGGGACC	eeeeeddddddddddeeeee	25	2295	2314	1223
619505	316	335	CCAGAAGCGACACTCACGCT	eeeeeddddddddddeeeee	13	2301	2320	1224
619506	322	341	CAGATGCCAGAAGCGACACT	eeeeeddddddddddeeeee	24	2307	2326	1225
619507	328	347	GAAGGACAGATGCCAGAAGC	eeeeeddddddddddeeeee	40	2313	2332	1226
619508	334	353	TGGCCAGAAGGACAGATGCC	eeeeeddddddddddeeeee	3	2319	2338	1227
619509	340	359	ACAGGCTGGCCAGAAGGACA	eeeeeddddddddddeeeee	31	2325	2344	1228
619510	346	365	CAGACCACAGGCTGGCCAGA	eeeeeddddddddddeeeee	17	2331	2350	1229
619511	352	371	CTTGGCCAGACCACAGGCTG	eeeeeddddddddddeeeee	20	2337	2356	1230
619512	358	377	ACATCACTTGGCCAGACCAC	eeeeeddddddddddeeeee	7	2343	2362	1231
619513	364	383	AGGGTTACATCACTTGGCCA	eeeeeddddddddddeeeee	19	2349	2368	1232
619514	370	389	GAGAGGAGGGTTACATCACT	eeeeeddddddddddeeeee	28	2355	2374	1233
619515	376	395	AGGCTGGAGAGGAGGGTTAC	eeeeeddddddddddeeeee	31	2361	2380	1234
619516	382	401	GTGCACAGGCTGGAGAGGAG	eeeeeddddddddddeeeee	5	2367	2386	1235
619517	388	407	CTGCCTGTGCACAGGCTGGA	eeeeeddddddddddeeeee	15	2373	2392	1236
619518	394	413	CCCAGGCTGCCTGTGCACAG	eeeeeddddddddddeeeee	23	2379	2398	1237
619519	400	419	GCTGTTCCAGGCTGCCTGT	eeeeeddddddddddeeeee	40	2385	2404	1238
619520	406	425	GATGGAGCTGTTCCAGGCT	eeeeeddddddddddeeeee	12	2391	2410	1239
619521	431	450	GCCCTATTATAGCTGAGGG	eeeeeddddddddddeeeee	23	2416	2435	1240
619522	437	456	CACGATGCCTATTTATAGC	eeeeeddddddddddeeeee	10	2422	2441	1241
619523	443	462	CCGGGTCACGATGCCCTATT	eeeeeddddddddddeeeee	24	2428	2447	1242
619524	449	468	CCCCGGCCGGGTCACGATGC	eeeeeddddddddddeeeee	37	2434	2453	1243
619525	452	471	TTCCCCCGGCCGGGTCACGA	eeeeeddddddddddeeeee	24	2437	2456	1244
619526	455	474	TTCTTCCCCCGGCCGGGTCA	eeeeeddddddddddeeeee	19	2440	2459	1245
619527	458	477	AGCTTCTTCCCCGGCCGGG	eeeeeddddddddddeeeee	7	2443	2462	1246
619528	461	480	GGCAGCTTCTTCCCCGGCC	eeeeeddddddddddeeeee	38	2446	2465	1247
619529	464	483	AACGGCAGCTTCTTCCCCG	eeeeeddddddddddeeeee	31	2449	2468	1248
619530	467	486	AACAACGGCAGCTTCTTCCC	eeeeeddddddddddeeeee	40	2452	2471	1249
619531	470	489	CAGAACAACGGCAGCTTCTT	eeeeeddddddddddeeeee	53	2455	2474	1250
619532	473	492	ACCCAGAACACGGCAGCTT	eeeeeddddddddddeeeee	56	2458	2477	1251
619533	476	495	AGTACCCAGAACACGGCAG	eeeeeddddddddddeeeee	50	2461	2480	1252
619534	479	498	TGTAGTACCCAGAACACGG	eeeeeddddddddddeeeee	31	2464	2483	1253
619535	482	501	TGCTGTAGTACCCAGAACAA	eeeeeddddddddddeeeee	39	2467	2486	1254
619536	485	504	TTCTGCTGTAGTACCCAGAA	eeeeeddddddddddeeeee	52	2470	2489	1255
619537	488	507	CCCTTCTGCTGTAGTACCCA	eeeeeddddddddddeeeee	55	N/A	N/A	1256
619538	491	510	ATACCTTCTGCTGTAGTAC	eeeeeddddddddddeeeee	39	N/A	N/A	1257

【 0 5 1 0 】

10

20

30

40

【表 9 - 3】

619539	494	513	CGCATACCCTTCTGCTGTAG	eeeeeddddddddeeeee	69	N/A	N/A	1258
619540	497	516	TTCCGCATACCCTTCTGCTG	eeeeeddddddddeeeee	65	N/A	N/A	1259
619541	500	519	CGCTTCCGCATACCCTTCTG	eeeeeddddddddeeeee	60	N/A	N/A	1260
619542	503	522	GCTCGCTTCCGCATACCCTT	eeeeeddddddddeeeee	78	N/A	N/A	1261
619543	506	525	GGTGCTCGCTTCCGCATACC	eeeeeddddddddeeeee	69	5723	5742	1262
619544	525	544	AGGAGCCATCTCAGACTGGG	eeeeeddddddddeeeee	53	5742	5761	1263
619545	528	547	GGCAGGAGCCATCTCAGACT	eeeeeddddddddeeeee	56	5745	5764	1264
619546	531	550	ACCGGCAGGAGCCATCTCAG	eeeeeddddddddeeeee	47	5748	5767	1265
619547	534	553	CACACCGGAGGAGCCATCT	eeeeeddddddddeeeee	39	5751	5770	1266
619548	537	556	GCTCACACCGGAGGAGCCA	eeeeeddddddddeeeee	47	5754	5773	1267
619549	540	559	CAGGCTCACACCGGAGGAG	eeeeeddddddddeeeee	42	5757	5776	1268
619550	543	562	CCTCAGGCTCACACCGGAG	eeeeeddddddddeeeee	58	5760	5779	1269
619551	546	565	GGCCCTCAGGCTCACACCGG	eeeeeddddddddeeeee	53	5763	5782	1270
619552	549	568	GGTGGCCCTCAGGCTCACAC	eeeeeddddddddeeeee	31	5766	5785	1271
619553	552	571	GATGGTGGCCCTCAGGCTCA	eeeeeddddddddeeeee	8	5769	5788	1272
619554	555	574	GAGGATGGTGGCCCTCAGGC	eeeeeddddddddeeeee	35	5772	5791	1273
619555	558	577	GCAGAGGATGGTGGCCCTCA	eeeeeddddddddeeeee	54	5775	5794	1274
619556	561	580	GAGGCAGAGGATGGTGGCCC	eeeeeddddddddeeeee	37	5778	5797	1275
619557	564	583	CAGGAGGCAGAGGATGGTGG	eeeeeddddddddeeeee	13	5781	5800	1276
619558	572	591	GCCAGGCCAGGAGGCAGAG	eeeeeddddddddeeeee	43	5789	5808	1277
619559	575	594	CCAGCCCAGGCCAGGAGGCA	eeeeeddddddddeeeee	44	5792	5811	1278
619560	578	597	AGGCCAGGCCAGGCCAGGAG	eeeeeddddddddeeeee	50	5795	5814	1279
619561	581	600	GCCAGGCCAGGCCAGGCCAG	eeeeeddddddddeeeee	55	5798	5817	1280
619562	584	603	GCAGCCAGGCCAGGCCAGGC	eeeeeddddddddeeeee	43	5801	5820	1281
619563	587	606	CCTGCAGCCAGGCCAGCCCA	eeeeeddddddddeeeee	38	5804	5823	1282
619564	590	609	TCACCTGCAGCCAGGCCAGC	eeeeeddddddddeeeee	33	5807	5826	1283
619565	593	612	CGGTACCTGCAGCCAGGCC	eeeeeddddddddeeeee	45	5810	5829	1284
619566	596	615	ACCCGGTCACCTGCAGCCAG	eeeeeddddddddeeeee	42	5813	5832	1285
619567	599	618	TACACCCGGTCACCTGCAGC	eeeeeddddddddeeeee	22	5816	5835	1286
619568	602	621	ATGTACACCCGGTCACCTGC	eeeeeddddddddeeeee	37	5819	5838	1287
619569	605	624	TGTATGTACACCCGGTCACC	eeeeeddddddddeeeee	18	5822	5841	1288
619570	608	627	GGGTGTATGTACACCCGGTC	eeeeeddddddddeeeee	26	5825	5844	1289
619571	626	645	TGGATGACGAGGTGGAAGGG	eeeeeddddddddeeeee	44	5843	5862	1290
619572	629	648	TTGTGGATGACGAGGTGGAA	eeeeeddddddddeeeee	35	5846	5865	1291
619573	632	651	TCATTGTGGATGACGAGGTG	eeeeeddddddddeeeee	39	5849	5868	1292
619574	635	654	CTCTCATTGTGGATGACGAG	eeeeeddddddddeeeee	68	5852	5871	1293
619575	638	657	GTA CTCTCATTGTGGATGAC	eeeeeddddddddeeeee	65	5855	5874	1294
619576	641	660	CAGGTACTCTCATTGTGGAT	eeeeeddddddddeeeee	54	5858	5877	1295
619577	644	663	TCACAGGTACTCTCATTGTG	eeeeeddddddddeeeee	42	5861	5880	1296
619578	647	666	TGCTCACAGGTACTCTCATT	eeeeeddddddddeeeee	59	5864	5883	1297
619579	650	669	AGCTGCTCACAGGTACTCTC	eeeeeddddddddeeeee	57	5867	5886	1298
619580	653	672	GCCAGCTGCTCACAGGTACT	eeeeeddddddddeeeee	70	5870	5889	1299
619581	656	675	TTGCCAGCTGCTCACAGGT	eeeeeddddddddeeeee	47	5873	5892	1300
619582	659	678	GCCTTTGCCAGCTGCTCACA	eeeeeddddddddeeeee	49	5876	5895	1301
619583	662	681	TTGGCCTTTGCCAGCTGCTC	eeeeeddddddddeeeee	58	5879	5898	1302
619584	665	684	GCATTGGCCTTTGCCAGCTG	eeeeeddddddddeeeee	56	5882	5901	1303
619585	668	687	CCGGCATTGGCCTTTGCCAG	eeeeeddddddddeeeee	45	5885	5904	1304
619586	671	690	TTCCCGGCATTGGCCTTTGC	eeeeeddddddddeeeee	46	5888	5907	1305
619587	674	693	GGCTTCCCGGCATTGGCCTT	eeeeeddddddddeeeee	39	5891	5910	1306
619588	677	696	TTGGGCTTCCCGGCATTGGC	eeeeeddddddddeeeee	41	5894	5913	1307
619589	680	699	TCTTTGGGCTTCCCGGCATT	eeeeeddddddddeeeee	28	5897	5916	1308

【 0 5 1 1 】

【表 9 - 4】

619590	701	720	GGAGCAGGTATGAAGGTGGG	eeeeeddddddddddeeeee	35	5918	5937	1309
619591	704	723	ATTGGAGCAGGTATGAAGGT	eeeeeddddddddddeeeee	49	5921	5940	1310
619592	707	726	TGAATTGGAGCAGGTATGAA	eeeeeddddddddddeeeee	32	5924	5943	1311
619593	710	729	GCCTGAATTGGAGCAGGTAT	eeeeeddddddddddeeeee	57	5927	5946	1312
619594	713	732	TTGGCCTGAATTGGAGCAGG	eeeeeddddddddddeeeee	51	5930	5949	1313
619595	716	735	GTCTTGGCCTGAATTGGAGC	eeeeeddddddddddeeeee	42	5933	5952	1314
619596	719	738	GATGTCTTGGCCTGAATTGG	eeeeeddddddddddeeeee	24	5936	5955	1315
619597	740	759	AGGGCCTTTTCATCCACAGG	eeeeeddddddddddeeeee	17	5957	5976	1316
619598	743	762	TGTAGGGCCTTTTCATCCAC	eeeeeddddddddddeeeee	33	5960	5979	1317
619599	746	765	TCCTGTAGGGCCTTTTCATC	eeeeeddddddddddeeeee	6	5963	5982	1318
619600	749	768	TGGTCCTGTAGGGCCTTTTC	eeeeeddddddddddeeeee	42	5966	5985	1319
619601	752	771	AGCTGGTCTGTAGGGCCTT	eeeeeddddddddddeeeee	51	5969	5988	1320
619602	755	774	ACCAGCTGGTCTGTAGGGC	eeeeeddddddddddeeeee	37	5972	5991	1321
619603	758	777	AGCACCAGCTGGTCTGTAG	eeeeeddddddddddeeeee	44	5975	5994	1322
619604	761	780	ACTAGCACCAGCTGGTCTGT	eeeeeddddddddddeeeee	37	5978	5997	1323
619605	764	783	GCGACTAGCACCAGCTGGTC	eeeeeddddddddddeeeee	52	5981	6000	1324
619606	767	786	GCAGCGACTAGCACCAGCTG	eeeeeddddddddddeeeee	67	5984	6003	1325
619607	770	789	TTTGCAGCGACTAGCACCAG	eeeeeddddddddddeeeee	60	5987	6006	1326
619608	773	792	AGTTTTGCAGCGACTAGCAC	eeeeeddddddddddeeeee	43	5990	6009	1327
619609	776	795	TCAAGTTTTGCAGCGACTAG	eeeeeddddddddddeeeee	38	5993	6012	1328
619610	779	798	GTGTCAAGTTTTGCAGCGAC	eeeeeddddddddddeeeee	57	5996	6015	1329
619611	782	801	TCGGTGTCAAGTTTTGCAGC	eeeeeddddddddddeeeee	55	5999	6018	1330
619612	785	804	TCTTCGGTGTCAAGTTTTGC	eeeeeddddddddddeeeee	45	6002	6021	1331
619613	788	807	TTGTCTTCGGTGTCAAGTTT	eeeeeddddddddddeeeee	50	6005	6024	1332
619614	791	810	AACTTGTCTTCGGTGTCAAG	eeeeeddddddddddeeeee	48	6008	6027	1333
619615	794	813	CTCAACTTGTCTTCGGTGTG	eeeeeddddddddddeeeee	59	6011	6030	1334
619616	797	816	GCCCTCAACTTGTCTTCGGT	eeeeeddddddddddeeeee	41	6014	6033	1335
619617	800	819	GCGGCCCTCAACTTGTCTTC	eeeeeddddddddddeeeee	42	6017	6036	1336
619618	803	822	ATTGCGGCCCTCAACTTGTG	eeeeeddddddddddeeeee	32	6020	6039	1337
619619	806	825	ACCATTGCGGCCCTCAACTT	eeeeeddddddddddeeeee	34	6023	6042	1338
619620	809	828	CCGACCATTGCGGCCCTCAA	eeeeeddddddddddeeeee	55	6026	6045	1339
619621	812	831	ATCCGACCATTGCGGCCCT	eeeeeddddddddddeeeee	37	6029	6048	1340
619622	815	834	AGCATCCCGACCATTGCGGC	eeeeeddddddddddeeeee	50	6032	6051	1341
619623	818	837	GCCAGCATCCCGACCATTGC	eeeeeddddddddddeeeee	58	6035	6054	1342
619624	821	840	TTGGCCAGCATCCCGACCAT	eeeeeddddddddddeeeee	38	6038	6057	1343
619625	824	843	AAGTTGGCCAGCATCCCGAC	eeeeeddddddddddeeeee	46	6041	6060	1344
619626	827	846	AAGAAGTTGGCCAGCATCCC	eeeeeddddddddddeeeee	24	6044	6063	1345
619627	830	849	CCCAAGAAGTTGGCCAGCAT	eeeeeddddddddddeeeee	55	6047	6066	1346
619628	833	852	AAGCCCAAGAAGTTGGCCAG	eeeeeddddddddddeeeee	48	6050	6069	1347
619629	836	855	CGGAAGCCCAAGAAGTTGGC	eeeeeddddddddddeeeee	36	6053	6072	1348
619630	839	858	ATACGGAAGCCCAAGAAGTT	eeeeeddddddddddeeeee	40	6056	6075	1349
619631	842	861	TATATACGGAAGCCCAAGAA	eeeeeddddddddddeeeee	29	6059	6078	1350
619632	845	864	CCATATATACGGAAGCCCAA	eeeeeddddddddddeeeee	48	6062	6081	1351
619633	848	867	ATGCCATATATACGGAAGCC	eeeeeddddddddddeeeee	58	6065	6084	1352
619634	851	870	TGCATGCCATATATACGGAA	eeeeeddddddddddeeeee	59	6068	6087	1353
619635	854	873	CTGTGCATGCCATATATACG	eeeeeddddddddddeeeee	66	6071	6090	1354
619636	857	876	TCACTGTGCATGCCATATAT	eeeeeddddddddddeeeee	72	6074	6093	1355
619637	860	879	AGTCACTGTGCATGCCATA	eeeeeddddddddddeeeee	74	6077	6096	1356
619638	863	882	CATAGCTCACTGTGCATGCC	eeeeeddddddddddeeeee	69	6080	6099	1357
619639	866	885	CCCCATAGCTCACTGTGCAT	eeeeeddddddddddeeeee	43	6083	6102	1358
619640	869	888	ACGCCCCATAGCTCACTGTG	eeeeeddddddddddeeeee	48	6086	6105	1359

【 0 5 1 2 】

10

20

30

40

【表 9 - 5】

619641	872	891	ACCACGCCCCATAGCTCACT	eeeeeddddddddddeeeee	56	6089	6108	1360
619642	875	894	TGGACCACGCCCCATAGCTC	eeeeeddddddddddeeeee	40	6092	6111	1361
619643	878	897	CCATGGACCACGCCCCATAG	eeeeeddddddddddeeeee	24	6095	6114	1362
619644	881	900	GCCCCATGGACCACGCCCCA	eeeeeddddddddddeeeee	40	6098	6117	1363
619645	884	903	GTGGCCCCATGGACCACGCC	eeeeeddddddddddeeeee	26	6101	6120	1364
619646	887	906	ACGGTGGCCCCATGGACCAC	eeeeeddddddddddeeeee	35	6104	6123	1365
619647	890	909	AGGACGGTGGCCCCATGGAC	eeeeeddddddddddeeeee	35	6107	6126	1366
619648	893	912	GAGAGGACGGTGGCCCCATG	eeeeeddddddddddeeeee	44	6110	6129	1367
619649	913	932	TGCCAAAGACAGCCGTTGGG	eeeeeddddddddddeeeee	53	6130	6149	1368
619650	916	935	GGGTGCCAAAGACAGCCGTT	eeeeeddddddddddeeeee	40	6133	6152	1369
619651	919	938	CCAGGGTGCCAAAGACAGCC	eeeeeddddddddddeeeee	62	6136	6155	1370
619652	922	941	AGGCCAGGGTGCCAAAGACA	eeeeeddddddddddeeeee	44	6139	6158	1371
619653	925	944	GAGAGGCCAGGGTGCCAAAG	eeeeeddddddddddeeeee	58	6142	6161	1372
619654	928	947	AGAGAGAGGCCAGGGTGCCA	eeeeeddddddddddeeeee	34	6145	6164	1373
619655	931	950	GATAGAGAGAGGCCAGGGTG	eeeeeddddddddddeeeee	16	6148	6167	1374
619656	934	953	CCAGATAGAGAGAGGCCAGG	eeeeeddddddddddeeeee	41	6151	6170	1375
619657	937	956	CTCCAGATAGAGAGAGGCC	eeeeeddddddddddeeeee	58	6154	6173	1376
619658	940	959	AGGCTCCAGATAGAGAGAG	eeeeeddddddddddeeeee	21	6157	6176	1377
619659	943	962	CCAAGGCTCCAGATAGAGA	eeeeeddddddddddeeeee	21	6160	6179	1378
619660	946	965	GGTCCAAGGCTCCAGATAG	eeeeeddddddddddeeeee	43	6163	6182	1379
619661	949	968	TGTGGTCCAAGGCTCCAGA	eeeeeddddddddddeeeee	45	6166	6185	1380
619662	952	971	CTGTGTGGTCCAAGGCTCCC	eeeeeddddddddddeeeee	33	6169	6188	1381
619663	955	974	CAGCTGTGTGGTCCAAGGCT	eeeeeddddddddddeeeee	52	6172	6191	1382
619664	958	977	TGTCAGCTGTGTGGTCCAAG	eeeeeddddddddddeeeee	44	6175	6194	1383
619665	961	980	GCCTGTCACTGTGTGGTCC	eeeeeddddddddddeeeee	66	6178	6197	1384
619666	964	983	GTAGCTGTCACTGTGTGG	eeeeeddddddddddeeeee	47	6181	6200	1385
619667	967	986	CCTGTAGCTGTCACTGTG	eeeeeddddddddddeeeee	59	6184	6203	1386
619668	970	989	TTGCTGTAGCTGTCACT	eeeeeddddddddddeeeee	57	6187	6206	1387
619669	973	992	GGATTGCCTGTAGCTGTCA	eeeeeddddddddddeeeee	53	6190	6209	1388
619670	976	995	CCAGGATTGCCTGTAGCTG	eeeeeddddddddddeeeee	57	6193	6212	1389
619671	979	998	CACCCAGGATTGCCTGTAGC	eeeeeddddddddddeeeee	52	6196	6215	1390
619672	982	1001	GAACACCCAGGATTGCCTGT	eeeeeddddddddddeeeee	63	6199	6218	1391
619673	985	1004	AAGGAACACCCAGGATTGCC	eeeeeddddddddddeeeee	47	6202	6221	1392
619674	988	1007	TCCAAGGAACACCCAGGATT	eeeeeddddddddddeeeee	63	6205	6224	1393
619675	991	1010	CCTTCCAAGGAACACCCAGG	eeeeeddddddddddeeeee	60	6208	6227	1394
619676	994	1013	TGTCTTCCAAGGAACACCC	eeeeeddddddddddeeeee	62	6211	6230	1395
619677	997	1016	TCTTGTCTTCCAAGGAACA	eeeeeddddddddddeeeee	48	6214	6233	1396
619678	1000	1019	AGTTCTTGTCTTCCAAGGA	eeeeeddddddddddeeeee	35	6217	6236	1397
619679	1003	1022	TGCAGTTCTTGTCTTCCAA	eeeeeddddddddddeeeee	56	6220	6239	1398
619680	1006	1025	AGGTGCAGTTCTTGTCTTCC	eeeeeddddddddddeeeee	41	6223	6242	1399
619681	1009	1028	GGGAGGTGCAGTTCTTGTCC	eeeeeddddddddddeeeee	26	6226	6245	1400
619682	1012	1031	GCCGGGAGGTGCAGTTCTTG	eeeeeddddddddddeeeee	44	6229	6248	1401
619683	1015	1034	CCAGCCGGGAGGTGCAGTTC	eeeeeddddddddddeeeee	36	6232	6251	1402
619684	1018	1037	CATCCAGCCGGGAGGTGCAG	eeeeeddddddddddeeeee	32	6235	6254	1403
619685	1021	1040	GCGCATCCAGCCGGGAGGTG	eeeeeddddddddddeeeee	21	6238	6257	1404
619686	1024	1043	TGTGCGCATCCAGCCGGGAG	eeeeeddddddddddeeeee	44	6241	6260	1405
619687	1027	1046	CCTTGTGCGCATCCAGCCGG	eeeeeddddddddddeeeee	60	6244	6263	1406
619688	1030	1049	GGACCTTGTGCGCATCCAGC	eeeeeddddddddddeeeee	61	6247	6266	1407
619689	1033	1052	ACAGGACCTTGTGCGCATCC	eeeeeddddddddddeeeee	65	6250	6269	1408
619690	1036	1055	CAGACAGGACCTTGTGCGCA	eeeeeddddddddddeeeee	59	6253	6272	1409
619691	1039	1058	GGGCAGACAGGACCTTGTGC	eeeeeddddddddddeeeee	45	6256	6275	1410

【 0 5 1 3 】

【表 9 - 6】

619692	1042	1061	GCAGGGCAGACAGGACCTTG	eeeeeddddddddddeeeee	46	6259	6278	1411
619693	1045	1064	CCTGCAGGGCAGACAGGACC	eeeeeddddddddddeeeee	38	6262	6281	1412
619694	1048	1067	CAGCCTGCAGGGCAGACAGG	eeeeeddddddddddeeeee	41	6265	6284	1413
619695	1051	1070	GTACAGCCTGCAGGGCAGAC	eeeeeddddddddddeeeee	43	6268	6287	1414
619696	1054	1073	CCTGTACAGCCTGCAGGGCA	eeeeeddddddddddeeeee	48	6271	6290	1415
619697	1057	1076	GGCCCTGTACAGCCTGCAGG	eeeeeddddddddddeeeee	35	6274	6293	1416
619698	1060	1079	GCAGGCCCTGTACAGCCTGC	eeeeeddddddddddeeeee	22	6277	6296	1417
619699	1063	1082	CTAGCAGGCCCTGTACAGCC	eeeeeddddddddddeeeee	1	6280	6299	1418
619700	1066	1085	CCACTAGCAGGCCCTGTACA	eeeeeddddddddddeeeee	29	6283	6302	1419
619701	1069	1088	GGGCCACTAGCAGGCCCTGT	eeeeeddddddddddeeeee	2	6286	6305	1420
619702	1072	1091	CCTGGGCCACTAGCAGGCC	eeeeeddddddddddeeeee	25	6289	6308	1421
619703	1075	1094	TGCCCTGGGCCACTAGCAGG	eeeeeddddddddddeeeee	23	6292	6311	1422
619704	1078	1097	CCCTGCCCTGGGCCACTAGC	eeeeeddddddddddeeeee	46	6295	6314	1423
619705	1081	1100	CAGCCCTGCCCTGGGCCACT	eeeeeddddddddddeeeee	59	6298	6317	1424
619706	1084	1103	TATCAGCCCTGCCCTGGGCC	eeeeeddddddddddeeeee	36	6301	6320	1425
619707	1087	1106	GGCTATCAGCCCTGCCCTGG	eeeeeddddddddddeeeee	51	6304	6323	1426
619708	1090	1109	CCTGGCTATCAGCCCTGCC	eeeeeddddddddddeeeee	34	6307	6326	1427
619709	1093	1112	GGGCCTGGCTATCAGCCCTG	eeeeeddddddddddeeeee	17	6310	6329	1428
619710	1096	1115	GCTGGGCCTGGCTATCAGCC	eeeeeddddddddddeeeee	31	6313	6332	1429
619711	1099	1118	GCAGCTGGGCCTGGCTATCA	eeeeeddddddddddeeeee	44	6316	6335	1430
619712	1102	1121	GCAGCAGCTGGGCCTGGCTA	eeeeeddddddddddeeeee	38	6319	6338	1431
619713	1105	1124	ACAGCAGCAGCTGGGCCTGG	eeeeeddddddddddeeeee	29	6322	6341	1432
619714	1108	1127	TGGACAGCAGCAGCTGGGCC	eeeeeddddddddddeeeee	50	6325	6344	1433
619715	1111	1130	CCGTGGACAGCAGCAGCTGG	eeeeeddddddddddeeeee	53	6328	6347	1434
619716	1114	1133	CCACCGTGGACAGCAGCAGC	eeeeeddddddddddeeeee	24	6331	6350	1435
619717	1117	1136	CCACCACCGTGGACAGCAGC	eeeeeddddddddddeeeee	34	6334	6353	1436
619718	1120	1139	CGCCCACCACCGTGGACAGC	eeeeeddddddddddeeeee	56	6337	6356	1437
619719	1123	1142	ACACGCCCACCACCGTGGAC	eeeeeddddddddddeeeee	27	6340	6359	1438
619720	1126	1145	TGAACACGCCCACCACCGTG	eeeeeddddddddddeeeee	16	6343	6362	1439
619721	1129	1148	CTGTGAACACGCCCACCACC	eeeeeddddddddddeeeee	40	6346	6365	1440
619722	1132	1151	GGGCTGTGAACACGCCCACC	eeeeeddddddddddeeeee	25	6349	6368	1441
619723	1150	1169	GCTTCAGGTGCAGGCCTGGG	eeeeeddddddddddeeeee	36	6367	6386	1442
619724	1153	1172	GCTGCTTCAGGTGCAGGCCT	eeeeeddddddddddeeeee	47	6370	6389	1443
619725	1156	1175	ACGGCTGCTTCAGGTGCAGG	eeeeeddddddddddeeeee	14	6373	6392	1444
619726	1159	1178	CAAACGGCTGCTTCAGGTGC	eeeeeddddddddddeeeee	37	6376	6395	1445
619727	1162	1181	GCACAAACGGCTGCTTCAGG	eeeeeddddddddddeeeee	19	6379	6398	1446
619728	1165	1184	CCTGCACAAACGGCTGCTTC	eeeeeddddddddddeeeee	33	6382	6401	1447
619729	1168	1187	GGCCCTGCACAAACGGCTGC	eeeeeddddddddddeeeee	48	6385	6404	1448
619730	1171	1190	CCAGGCCCTGCACAAACGGC	eeeeeddddddddddeeeee	27	6388	6407	1449
619731	1174	1193	GAGCCAGGCCCTGCACAAAC	eeeeeddddddddddeeeee	35	6391	6410	1450
619732	1177	1196	AGAGAGCCAGGCCCTGCACA	eeeeeddddddddddeeeee	51	6394	6413	1451
619733	1180	1199	TATAGAGAGCCAGGCCCTGC	eeeeeddddddddddeeeee	27	6397	6416	1452
619734	1183	1202	GGGTATAGAGAGCCAGGCC	eeeeeddddddddddeeeee	41	6400	6419	1453
619735	1217	1236	TCTGTGAAGTCCAGAGAGCG	eeeeeddddddddddeeeee	22	6434	6453	1454
619736	1220	1239	AGTTCTGTGAAGTCCAGAGA	eeeeeddddddddddeeeee	48	6437	6456	1455
619737	1223	1242	TCCAGTTCTGTGAAGTCCAG	eeeeeddddddddddeeeee	26	6440	6459	1456
619738	1226	1245	ACATCCAGTTCTGTGAAGTC	eeeeeddddddddddeeeee	35	6443	6462	1457
619739	1229	1248	GCAACATCCAGTTCTGTGAA	eeeeeddddddddddeeeee	28	6446	6465	1458
619740	1232	1251	GCAGCAACATCCAGTTCTGT	eeeeeddddddddddeeeee	40	6449	6468	1459
619741	1235	1254	TCAGCAGCAACATCCAGTTC	eeeeeddddddddddeeeee	41	6452	6471	1460
619742	1238	1257	TTCTCAGCAGCAACATCCAG	eeeeeddddddddddeeeee	29	6455	6474	1461

【 0 5 1 4 】

10

20

30

40

【表 9 - 7】

619743	1241	1260	ATCTTCTCAGCAGCAACATC	eeeeeddddddddeeeee	32	6458	6477	1462
619744	1244	1263	TCAATCTTCTCAGCAGCAAC	eeeeeddddddddeeeee	38	6461	6480	1463
619745	1247	1266	CTGTCAATCTTCTCAGCAGC	eeeeeddddddddeeeee	39	6464	6483	1464
619746	1250	1269	AACCTGTCAATCTTCTCAGC	eeeeeddddddddeeeee	20	6467	6486	1465
619747	1253	1272	ATGAACCTGTCAATCTTCTC	eeeeeddddddddeeeee	50	6470	6489	1466
619748	1256	1275	TGCATGAACCTGTCAATCTT	eeeeeddddddddeeeee	61	6473	6492	1467
619749	1259	1278	GCCTGCATGAACCTGTCAAT	eeeeeddddddddeeeee	62	6476	6495	1468
619750	1262	1281	ACAGCCTGCATGAACCTGTC	eeeeeddddddddeeeee	56	6479	6498	1469
619751	1265	1284	GTCACAGCCTGCATGAACCT	eeeeeddddddddeeeee	75	6482	6501	1470
619752	1268	1287	CCTGTCACAGCCTGCATGAA	eeeeeddddddddeeeee	46	6485	6504	1471
619753	1271	1290	CATCCTGTCACAGCCTGCAT	eeeeeddddddddeeeee	74	6488	6507	1472
619754	1274	1293	TTCCATCCTGTCACAGCCTG	eeeeeddddddddeeeee	71	6491	6510	1473
619755	1277	1296	GTCTTCCATCCTGTCACAGC	eeeeeddddddddeeeee	65	6494	6513	1474
619756	1280	1299	CCAGTCTTCCATCCTGTCAC	eeeeeddddddddeeeee	56	6497	6516	1475
619757	1283	1302	CAGCCAGTCTTCCATCCTGT	eeeeeddddddddeeeee	63	6500	6519	1476

【0515】

表 9 は、20,000 細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用し、4000 nM のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした Hep G2 細胞中での AGT mRNA 阻害を示す。約 24 時間の処置期間後、RNA を細胞から単離し、AGT mRNA レベルを定量リアルタイム PCR によって測定した。ヒトプライマープローブセット RTS4039 を使用して mRNA レベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定した全 RNA 含量に従って AGT mRNA レベルを調整した。無処置の対照細胞に対する AGT の阻害率（％）として結果を示す。

【0516】

【表 10-1】

表 9

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする M O E 含有ギャップマーによる A G
T m R N A 阻害

ISIS 番号	配列 番号 1 開 始部 位	配列 番号 1 終 止部 位	配列	化学的構造	阻害率 (%)	配列 番号 2 開 始部 位	配列 番号 2: 終 止部 位	配列 番号
610015	2049	2068	GACACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddeeeee	91	13518	13537	239
610015	2049	2068	GACACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddeeeee	86	13518	13537	239
610015	2049	2068	GACACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddeeeee	88	13518	13537	239
610015	2049	2068	GACACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddeeeee	85	13518	13537	239
619692	1042	1061	GCAGGGCAGACAGGACCTTG	eeeeeddddddddeeeee	17	6259	6278	1411
619693	1045	1064	CCTGCAGGGCAGACAGGACC	eeeeeddddddddeeeee	25	6262	6281	1412
619694	1048	1067	CAGCCTGCAGGGCAGACAGG	eeeeeddddddddeeeee	32	6265	6284	1413
619695	1051	1070	GTACAGCCTGCAGGGCAGAC	eeeeeddddddddeeeee	25	6268	6287	1414
619696	1054	1073	CCTGTACAGCCTGCAGGGCA	eeeeeddddddddeeeee	48	6271	6290	1415
619697	1057	1076	GGCCCTGTACAGCCTGCAGG	eeeeeddddddddeeeee	32	6274	6293	1416
619698	1060	1079	GCAGGCCCTGTACAGCCTGC	eeeeeddddddddeeeee	17	6277	6296	1417
619699	1063	1082	CTAGCAGGCCCTGTACAGCC	eeeeeddddddddeeeee	13	6280	6299	1418
619700	1066	1085	CCACTAGCAGGCCCTGTACA	eeeeeddddddddeeeee	36	6283	6302	1419
619701	1069	1088	GGGCCACTAGCAGGCCCTGT	eeeeeddddddddeeeee	6	6286	6305	1420
619702	1072	1091	CCTGGGCCACTAGCAGGCC	eeeeeddddddddeeeee	16	6289	6308	1421
619703	1075	1094	TGCCCTGGGCCACTAGCAGG	eeeeeddddddddeeeee	26	6292	6311	1422
619704	1078	1097	CCCTGCCCTGGGCCACTAGC	eeeeeddddddddeeeee	41	6295	6314	1423
619705	1081	1100	CAGCCCTGCCCTGGGCCACT	eeeeeddddddddeeeee	36	6298	6317	1424
619706	1084	1103	TATCAGCCCTGCCCTGGGCC	eeeeeddddddddeeeee	21	6301	6320	1425
619707	1087	1106	GGCTATCAGCCCTGCCCTGG	eeeeeddddddddeeeee	27	6304	6323	1426
619708	1090	1109	CCTGGCTATCAGCCCTGCC	eeeeeddddddddeeeee	30	6307	6326	1427
619709	1093	1112	GGCCTGGCTATCAGCCCTG	eeeeeddddddddeeeee	9	6310	6329	1428
619710	1096	1115	GCTGGCCTGGCTATCAGCC	eeeeeddddddddeeeee	15	6313	6332	1429
619711	1099	1118	GCAGCTGGGCCTGGCTATCA	eeeeeddddddddeeeee	26	6316	6335	1430
619712	1102	1121	GCAGCAGCTGGGCCTGGCTA	eeeeeddddddddeeeee	61	6319	6338	1431

【0517】

10

20

30

【表 10 - 2】

619713	1105	1124	ACAGCAGCAGCTGGGCCTGG	eeeeeddddddddddeeeee	44	6322	6341	1432
619714	1108	1127	TGGACAGCAGCAGCTGGGCC	eeeeeddddddddddeeeee	47	6325	6344	1433
619715	1111	1130	CCGTGGACAGCAGCAGCTGG	eeeeeddddddddddeeeee	41	6328	6347	1434
619716	1114	1133	CCACCGTGGACAGCAGCAGC	eeeeeddddddddddeeeee	35	6331	6350	1435
619717	1117	1136	CCACCACCGTGGACAGCAGC	eeeeeddddddddddeeeee	34	6334	6353	1436
619718	1120	1139	CGCCCACCACCGTGGACAGC	eeeeeddddddddddeeeee	37	6337	6356	1437
619719	1123	1142	ACACGCCACCACCGTGGAC	eeeeeddddddddddeeeee	17	6340	6359	1438
619720	1126	1145	TGAACACGCCACCACCGTG	eeeeeddddddddddeeeee	20	6343	6362	1439
619721	1129	1148	CTGTGAACACGCCACCACC	eeeeeddddddddddeeeee	36	6346	6365	1440
619722	1132	1151	GGGCTGTGAACACGCCACC	eeeeeddddddddddeeeee	14	6349	6368	1441
619723	1150	1169	GCTTCAGGTGCAGGCCTGGG	eeeeeddddddddddeeeee	32	6367	6386	1442
619724	1153	1172	GCTGCTTCAGGTGCAGGCCT	eeeeeddddddddddeeeee	47	6370	6389	1443
619725	1156	1175	ACGGCTGCTTCAGGTGCAGG	eeeeeddddddddddeeeee	27	6373	6392	1444
619726	1159	1178	CAACGGCTGCTTCAGGTGC	eeeeeddddddddddeeeee	20	6376	6395	1445
619727	1162	1181	GCACAAACGGCTGCTTCAGG	eeeeeddddddddddeeeee	13	6379	6398	1446
619728	1165	1184	CCTGCACAAACGGCTGCTTC	eeeeeddddddddddeeeee	25	6382	6401	1447
619729	1168	1187	GGCCCTGCACAAACGGCTGC	eeeeeddddddddddeeeee	29	6385	6404	1448
619730	1171	1190	CCAGGCCCTGCACAAACGGC	eeeeeddddddddddeeeee	27	6388	6407	1449
619731	1174	1193	GAGCCAGGCCCTGCACAAAC	eeeeeddddddddddeeeee	18	6391	6410	1450
619732	1177	1196	AGAGAGCCAGGCCCTGCACA	eeeeeddddddddddeeeee	33	6394	6413	1451
619733	1180	1199	TATAGAGAGCCAGGCCCTGC	eeeeeddddddddddeeeee	0	6397	6416	1452
619734	1183	1202	GGGTATAGAGAGCCAGGCC	eeeeeddddddddddeeeee	14	6400	6419	1453
619735	1217	1236	TCTGTGAAGTCCAGAGAGCG	eeeeeddddddddddeeeee	17	6434	6453	1454
619736	1220	1239	AGTTCTGTGAAGTCCAGAGA	eeeeeddddddddddeeeee	41	6437	6456	1455
619737	1223	1242	TCCAGTTCTGTGAAGTCCAG	eeeeeddddddddddeeeee	31	6440	6459	1456
619738	1226	1245	ACATCCAGTTCTGTGAAGTC	eeeeeddddddddddeeeee	35	6443	6462	1457
619739	1229	1248	GCAACATCCAGTTCTGTGAA	eeeeeddddddddddeeeee	29	6446	6465	1458
619740	1232	1251	GCAGCAACATCCAGTTCTGT	eeeeeddddddddddeeeee	35	6449	6468	1459
619741	1235	1254	TCAGCAGCAACATCCAGTTC	eeeeeddddddddddeeeee	35	6452	6471	1460
619742	1238	1257	TTCTCAGCAGCAACATCCAG	eeeeeddddddddddeeeee	5	6455	6474	1461
619743	1241	1260	ATCTTCTCAGCAGCAACATC	eeeeeddddddddddeeeee	22	6458	6477	1462
619744	1244	1263	TCAATCTTCTCAGCAGCAAC	eeeeeddddddddddeeeee	45	6461	6480	1463
619745	1247	1266	CTGTCAATCTTCTCAGCAGC	eeeeeddddddddddeeeee	21	6464	6483	1464
619746	1250	1269	AACCTGTCAATCTTCTCAGC	eeeeeddddddddddeeeee	8	6467	6486	1465
619747	1253	1272	ATGAACCTGTCAATCTTCTC	eeeeeddddddddddeeeee	43	6470	6489	1466
619748	1256	1275	TGCATGAACCTGTCAATCTT	eeeeeddddddddddeeeee	31	6473	6492	1467
619749	1259	1278	GCCTGCATGAACCTGTCAAT	eeeeeddddddddddeeeee	44	6476	6495	1468
619750	1262	1281	ACAGCCTGCATGAACCTGTC	eeeeeddddddddddeeeee	41	6479	6498	1469
619751	1265	1284	GTCACAGCCTGCATGAACCT	eeeeeddddddddddeeeee	69	6482	6501	1470
619752	1268	1287	CCTGTCACAGCCTGCATGAA	eeeeeddddddddddeeeee	43	6485	6504	1471
619753	1271	1290	CATCCTGTCACAGCCTGCAT	eeeeeddddddddddeeeee	59	6488	6507	1472
619754	1274	1293	TTCCATCCTGTCACAGCCTG	eeeeeddddddddddeeeee	49	6491	6510	1473
619755	1277	1296	GTCTTCCATCCTGTCACAGC	eeeeeddddddddddeeeee	42	6494	6513	1474
619756	1280	1299	CCAGTCTTCCATCCTGTCAC	eeeeeddddddddddeeeee	20	6497	6516	1475
619757	1283	1302	CAGCCAGTCTTCCATCCTGT	eeeeeddddddddddeeeee	41	6500	6519	1476
619758	1286	1305	GAGCAGCCAGTCTTCCATCC	eeeeeddddddddddeeeee	41	6503	6522	1477
619759	1289	1308	AGGGAGCAGCCAGTCTTCCA	eeeeeddddddddddeeeee	29	6506	6525	1478
619760	1292	1311	ATCAGGGAGCAGCCAGTCTT	eeeeeddddddddddeeeee	29	6509	6528	1479
619761	1295	1314	CCCATCAGGGAGCAGCCAGT	eeeeeddddddddddeeeee	7	6512	6531	1480
619762	1298	1317	GCTCCCATCAGGGAGCAGCC	eeeeeddddddddddeeeee	4	6515	6534	1481
619763	1301	1320	CTGGCTCCCATCAGGGAGCA	eeeeeddddddddddeeeee	8	6518	6537	1482

【0518】

10

20

30

40

【表 10 - 3】

619764	1304	1323	ACACTGGCTCCCATCAGGGA	eeeeeddddddddddeeeee	0	6521	6540	1483
619765	1307	1326	TCCACACTGGCTCCCATCAG	eeeeeddddddddddeeeee	27	6524	6543	1484
619766	1310	1329	CTGTCCACACTGGCTCCCAT	eeeeeddddddddddeeeee	27	6527	6546	1485
619767	1313	1332	GTGCTGTCCACACTGGCTCC	eeeeeddddddddddeeeee	42	6530	6549	1486
619768	1316	1335	AGGGTGCTGTCCACACTGGC	eeeeeddddddddddeeeee	39	6533	6552	1487
619769	1319	1338	GCCAGGGTGCTGTCCACACT	eeeeeddddddddddeeeee	65	6536	6555	1488
619770	1322	1341	AAAGCCAGGGTGCTGTCCAC	eeeeeddddddddddeeeee	65	6539	6558	1489
619771	1325	1344	TTGAAAGCCAGGGTGCTGTC	eeeeeddddddddddeeeee	48	6542	6561	1490
619772	1328	1347	GTGTTGAAAGCCAGGGTGCT	eeeeeddddddddddeeeee	44	6545	6564	1491
619773	1331	1350	TAGGTGTTGAAAGCCAGGGT	eeeeeddddddddddeeeee	16	6548	6567	1492
619774	1351	1370	TCTTCCCTTGGAAGTGACG	eeeeeddddddddddeeeee	40	N/A	N/A	1493
619775	1354	1373	TCATCTTCCCTTGGAAGTGG	eeeeeddddddddddeeeee	41	N/A	N/A	1494
619776	1357	1376	CCTTCATCTTCCCTTGGAAG	eeeeeddddddddddeeeee	30	N/A	N/A	1495
619777	1360	1379	AGCCCTTCATCTTCCCTTGG	eeeeeddddddddddeeeee	53	N/A	N/A	1496
619778	1363	1382	AGAAGCCCTTCATCTTCCCT	eeeeeddddddddddeeeee	33	10374	10393	1497
619779	1366	1385	GGGAGAAGCCCTTCATCTTC	eeeeeddddddddddeeeee	56	10377	10396	1498
619780	1369	1388	GCAGGGAGAAGCCCTTCATC	eeeeeddddddddddeeeee	42	10380	10399	1499
619781	1372	1391	CCAGCAGGGAGAAGCCCTTC	eeeeeddddddddddeeeee	63	10383	10402	1500
619782	1375	1394	CGGCCAGCAGGGAGAAGCCC	eeeeeddddddddddeeeee	52	10386	10405	1501
619783	1378	1397	GCTCGGCCAGCAGGGAGAAG	eeeeeddddddddddeeeee	37	10389	10408	1502
619784	1398	1417	GTCCACCCAGAAGCTCCTGGG	eeeeeddddddddddeeeee	67	10409	10428	1503
619785	1401	1420	GTTGTCCACCCAGAAGCTCCT	eeeeeddddddddddeeeee	65	10412	10431	1504
619786	1404	1423	GCTGTTGTCCACCCAGAAGCT	eeeeeddddddddddeeeee	43	10415	10434	1505
619787	1407	1426	GGTGCTGTTGTCCACCCAGA	eeeeeddddddddddeeeee	49	10418	10437	1506
619788	1410	1429	TGAGGTGCTGTTGTCCACCC	eeeeeddddddddddeeeee	50	10421	10440	1507
619789	1413	1432	CACTGAGGTGCTGTTGTCCA	eeeeeddddddddddeeeee	47	10424	10443	1508
619790	1416	1435	AGACACTGAGGTGCTGTTGT	eeeeeddddddddddeeeee	50	10427	10446	1509
619791	1419	1438	AACAGACACTGAGGTGCTGT	eeeeeddddddddddeeeee	58	10430	10449	1510
619792	1422	1441	GGGAACAGACACTGAGGTGC	eeeeeddddddddddeeeee	56	10433	10452	1511
619793	1425	1444	CATGGGAACAGACACTGAGG	eeeeeddddddddddeeeee	45	10436	10455	1512
619794	1428	1447	GAGCATGGGAACAGACACTG	eeeeeddddddddddeeeee	49	10439	10458	1513
619795	1431	1450	AGAGAGCATGGGAACAGACA	eeeeeddddddddddeeeee	32	10442	10461	1514
619796	1434	1453	GCCAGAGAGCATGGGAACAG	eeeeeddddddddddeeeee	32	10445	10464	1515
619797	1437	1456	CATGCCAGAGAGCATGGGAA	eeeeeddddddddddeeeee	35	10448	10467	1516
619798	1440	1459	GCCCATGCCAGAGAGCATGG	eeeeeddddddddddeeeee	23	10451	10470	1517
619799	1443	1462	GGTGCCCATGCCAGAGAGCA	eeeeeddddddddddeeeee	48	10454	10473	1518
619800	1446	1465	GAAGGTGCCCATGCCAGAGA	eeeeeddddddddddeeeee	46	10457	10476	1519
619801	1449	1468	CTGGAAGGTGCCCATGCCAG	eeeeeddddddddddeeeee	55	10460	10479	1520
619802	1452	1471	GTGCTGGAAGGTGCCCATGC	eeeeeddddddddddeeeee	43	10463	10482	1521
619803	1455	1474	CCAGTGCTGGAAGGTGCCCA	eeeeeddddddddddeeeee	58	10466	10485	1522
619804	1458	1477	ACTCCAGTGCTGGAAGGTGC	eeeeeddddddddddeeeee	50	10469	10488	1523
619805	1461	1480	GTCACCTCCAGTGCTGGAAGG	eeeeeddddddddddeeeee	53	10472	10491	1524
619806	1464	1483	GATGTCACTCCAGTGCTGGA	eeeeeddddddddddeeeee	46	10475	10494	1525
619807	1467	1486	CTGGATGTCACTCCAGTGCT	eeeeeddddddddddeeeee	70	10478	10497	1526
619808	1470	1489	GTCCTGGATGTCACTCCAGT	eeeeeddddddddddeeeee	49	10481	10500	1527
619809	1473	1492	GTTGTCTGGATGTCACTCC	eeeeeddddddddddeeeee	51	10484	10503	1528
619810	1476	1495	GAAGTTGTCTGGATGTCACT	eeeeeddddddddddeeeee	51	10487	10506	1529
619811	1479	1498	CGAGAAGTTGTCTGGATGT	eeeeeddddddddddeeeee	33	10490	10509	1530
619812	1482	1501	CACCGAGAAGTTGTCTGGA	eeeeeddddddddddeeeee	49	10493	10512	1531
619813	1485	1504	AGTACCGAGAAGTTGTCTCT	eeeeeddddddddddeeeee	53	10496	10515	1532
619814	1488	1507	TTGAGTCACCGAGAAGTTGT	eeeeeddddddddddeeeee	41	10499	10518	1533

【表 10 - 4】

619815	1491	1510	CACTTGAGTCACCGAGAAGT	eeeeeddddddddeeeee	32	10502	10521	1534
619816	1494	1513	GGGCACTTGAGTCACCGAGA	eeeeeddddddddeeeee	69	10505	10524	1535
619817	1497	1516	GAAGGGCACTTGAGTCACCG	eeeeeddddddddeeeee	63	10508	10527	1536
619818	1500	1519	AGTGAAGGGCACTTGAGTCA	eeeeeddddddddeeeee	37	10511	10530	1537
619819	1503	1522	CTCAGTGAAGGGCACTTGAG	eeeeeddddddddeeeee	35	10514	10533	1538
619820	1506	1525	GCTCTCAGTGAAGGGCACTT	eeeeeddddddddeeeee	65	10517	10536	1539
619821	1524	1543	GATCAGCAGCAGGCAGGCGC	eeeeeddddddddeeeee	58	10535	10554	1540
619822	1527	1546	CTGGATCAGCAGCAGGCAGG	eeeeeddddddddeeeee	55	10538	10557	1541
619823	1530	1549	AGGCTGGATCAGCAGCAGGC	eeeeeddddddddeeeee	72	10541	10560	1542
619824	1533	1552	GTGAGGCTGGATCAGCAGCA	eeeeeddddddddeeeee	70	10544	10563	1543
619825	1536	1555	ATAGTGAGGCTGGATCAGCA	eeeeeddddddddeeeee	17	10547	10566	1544
619826	1539	1558	GGCATAGTGAGGCTGGATCA	eeeeeddddddddeeeee	67	10550	10569	1545
619827	1542	1561	AGAGGCATAGTGAGGCTGGA	eeeeeddddddddeeeee	51	10553	10572	1546
619828	1545	1564	GTCAGAGGCATAGTGAGGCT	eeeeeddddddddeeeee	46	10556	10575	1547

10

【0520】

表10は、20,000細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して4000nMのアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトしたHepG2細胞中でのAGT mRNA阻害を示す。約24時間の処置期間後、RNAを細胞から単離し、AGT mRNAレベルを定量リアルタイムPCRによって測定した。ヒトプライマープロブセットRTS3721を使用してmRNAレベルを測定した。RIBOGR EEN（登録商標）によって測定した全RNA含量に従ってAGT mRNAレベルを調整した。無処置の対照細胞に対するAGTの阻害率（％）として結果を示す。

20

【0521】

【表 1 1 - 1】

表 1 0

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする M O E 含有ギャップマーによる A G
T m R N A 阻害

ISIS 番号	配 列 番 号 1 開 始 部 位	配 列 番 号 1 終 止 部 位	配 列	化学的構造	阻 害 率 (%)	配 列 番 号 2 開 始 部 位	配 列 番 号 2: 終 止 部 位	配 列 番 号
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeeddddddddeee ee	91	1351 8	1353 7	239
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeeddddddddeee ee	84	1351 8	1353 7	239
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeeddddddddeee ee	91	1351 8	1353 7	239
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeeddddddddeee ee	78	1351 8	1353 7	239
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeeddddddddeee ee	89	1351 8	1353 7	239
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeeddddddddeee ee	81	1351 8	1353 7	239
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeeddddddddeee ee	92	1351 8	1353 7	239
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeeddddddddeee ee	90	1351 8	1353 7	239

【 0 5 2 2 】

10

20

30

【表 1 1 - 2】

61978 4	139 8	141 7	GTCCACCCAGAACTCCT GGG	eeeeeddddddddddeee ee	73	1040 9	1042 8	1503
61978 5	140 1	142 0	GTTGTCCACCCAGAACT CCT	eeeeeddddddddddeee ee	76	1041 2	1043 1	1504
61978 6	140 4	142 3	GCTGTTGTCCACCCAGA ACT	eeeeeddddddddddeee ee	54	1041 5	1043 4	1505
61978 7	140 7	142 6	GGTGCTGTTGTCCACCC AGA	eeeeeddddddddddeee ee	55	1041 8	1043 7	1506
61978 8	141 0	142 9	TGAGGTGCTGTTGTCCA CCC	eeeeeddddddddddeee ee	51	1042 1	1044 0	1507
61978 9	141 3	143 2	CACTGAGGTGCTGTTGT CCA	eeeeeddddddddddeee ee	46	1042 4	1044 3	1508
61979 0	141 6	143 5	AGACACTGAGGTGCTGT TGT	eeeeeddddddddddeee ee	51	1042 7	1044 6	1509
61979 1	141 9	143 8	AACAGACACTGAGGTGC TGT	eeeeeddddddddddeee ee	36	1043 0	1044 9	1510
61979 2	142 2	144 1	GGGAACAGACACTGAGG TGC	eeeeeddddddddddeee ee	57	1043 3	1045 2	1511
61979 3	142 5	144 4	CATGGGAACAGACACTG AGG	eeeeeddddddddddeee ee	42	1043 6	1045 5	1512
61979 4	142 8	144 7	GAGCATGGGAACAGACA CTG	eeeeeddddddddddeee ee	45	1043 9	1045 8	1513
61979 5	143 1	145 0	AGAGAGCATGGGAACAG ACA	eeeeeddddddddddeee ee	25	1044 2	1046 1	1514
61979 6	143 4	145 3	GCCAGAGAGCATGGGAA CAG	eeeeeddddddddddeee ee	45	1044 5	1046 4	1515
61979 7	143 7	145 6	CATGCCAGAGAGCATGG GAA	eeeeeddddddddddeee ee	38	1044 8	1046 7	1516
61979 8	144 0	145 9	GCCCATGCCAGAGAGCA TGG	eeeeeddddddddddeee ee	27	1045 1	1047 0	1517
61979 9	144 3	146 2	GGTGCCCATGCCAGAGA GCA	eeeeeddddddddddeee ee	50	1045 4	1047 3	1518
61980 0	144 6	146 5	GAAGGTGCCCATGCCAG AGA	eeeeeddddddddddeee ee	39	1045 7	1047 6	1519
61980 1	144 9	146 8	CTGGAAGGTGCCCATGC CAG	eeeeeddddddddddeee ee	54	1046 0	1047 9	1520
61980 2	145 2	147 1	GTGCTGGAAGGTGCCCA TGC	eeeeeddddddddddeee ee	42	1046 3	1048 2	1521
61980 3	145 5	147 4	CCAGTGCTGGAAGGTGC CCA	eeeeeddddddddddeee ee	83	1046 6	1048 5	1522
61980 4	145 8	147 7	ACTCCAGTGCTGGAAGG TGC	eeeeeddddddddddeee ee	42	1046 9	1048 8	1523

【 0 5 2 3 】

10

20

30

40

【表 1 1 - 3】

61980	146	148	GTCACTCCAGTGCTGGA	eeeeeddddddddeee	66	1047	1049	
5	1	0	AGG	ee		2	1	1524
61980	146	148	GATGTCACTCCAGTGCT	eeeeeddddddddeee	55	1047	1049	
6	4	3	GGA	ee		5	4	1525
61980	146	148	CTGGATGTCACTCCAGT	eeeeeddddddddeee	68	1047	1049	
7	7	6	GCT	ee		8	7	1526
61980	147	148	GTCCTGGATGTCACTCC	eeeeeddddddddeee	49	1048	1050	
8	0	9	AGT	ee		1	0	1527
61980	147	149	GTTGTCTGGATGTCAC	eeeeeddddddddeee	61	1048	1050	
9	3	2	TCC	ee		4	3	1528
61981	147	149	GAAGTTGTCTGGATGT	eeeeeddddddddeee	47	1048	1050	
0	6	5	CAC	ee		7	6	1529
61981	147	149	CGAGAAGTTGTCTGGA	eeeeeddddddddeee	44	1049	1050	
1	9	8	TGT	ee		0	9	1530
61981	148	150	CACCGAGAAGTTGTCTT	eeeeeddddddddeee	56	1049	1051	
2	2	1	GGA	ee		3	2	1531
61981	148	150	AGTCACCGAGAAGTTGT	eeeeeddddddddeee	48	1049	1051	
3	5	4	CCT	ee		6	5	1532
61981	148	150	TTGAGTCACCGAGAAGT	eeeeeddddddddeee	45	1049	1051	
4	8	7	TGT	ee		9	8	1533
61981	149	151	CACTTGAGTCACCGAGA	eeeeeddddddddeee	33	1050	1052	
5	1	0	AGT	ee		2	1	1534
61981	149	151	GGGCACTTGAGTCACCG	eeeeeddddddddeee	70	1050	1052	
6	4	3	AGA	ee		5	4	1535
61981	149	151	GAAGGGCACTTGAGTCA	eeeeeddddddddeee	72	1050	1052	
7	7	6	CCG	ee		8	7	1536
61981	150	151	AGTGAAGGGCACTTGAG	eeeeeddddddddeee	41	1051	1053	
8	0	9	TCA	ee		1	0	1537
61981	150	152	CTCAGTGAAGGGCACTT	eeeeeddddddddeee	39	1051	1053	
9	3	2	GAG	ee		4	3	1538
61982	150	152	GCTCTCAGTGAAGGGCA	eeeeeddddddddeee	57	1051	1053	
0	6	5	CTT	ee		7	6	1539
61982	152	154	GATCAGCAGCAGGCAGG	eeeeeddddddddeee	58	1053	1055	
1	4	3	CGC	ee		5	4	1540
61982	152	154	CTGGATCAGCAGCAGGC	eeeeeddddddddeee	59	1053	1055	
2	7	6	AGG	ee		8	7	1541
61982	153	154	AGGCTGGATCAGCAGCA	eeeeeddddddddeee	82	1054	1056	
3	0	9	GGC	ee		1	0	1542
61982	153	155	GTGAGGCTGGATCAGCA	eeeeeddddddddeee	65	1054	1056	
4	3	2	GCA	ee		4	3	1543
61982	153	155	ATAGTGAGGCTGGATCA	eeeeeddddddddeee	7	1054	1056	
5	6	5	GCA	ee		7	6	1544

【0 5 2 4】

10

20

30

40

【表 1 1 - 4】

61982 6	153 9	155 8	GGCATAGTGAGGCTGGA TCA	eeeeeddddddddeeee ee	71	1055 0	1056 9	1545
61982 7	154 2	156 1	AGAGGCATAGTGAGGCT GGA	eeeeeddddddddeeee ee	58	1055 3	1057 2	1546
61982 8	154 5	156 4	GTCAGAGGCATAGTGAG GCT	eeeeeddddddddeeee ee	57	1055 6	1057 5	1547
61982 9	154 8	156 7	CAGGTCAGAGGCATAGT GAG	eeeeeddddddddeeee ee	46	1055 9	1057 8	1548
61983 0	155 1	157 0	GTCCAGGTCAGAGGCAT AGT	eeeeeddddddddeeee ee	6	1056 2	1058 1	1549
61983 1	155 4	157 3	CTTGTCAGGTCAGAGG CAT	eeeeeddddddddeeee ee	54	1056 5	1058 4	1550
61983 2	155 7	157 6	CACCTTGTCAGGTCAG AGG	eeeeeddddddddeeee ee	47	1056 8	1058 7	1551
61983 3	156 0	157 9	CTCCACCTTGTCAGGT CAG	eeeeeddddddddeeee ee	33	1057 1	1059 0	1552
61983 4	156 3	158 2	ACCCTCCACCTTGTTCA GGT	eeeeeddddddddeeee ee	59	1057 4	1059 3	1553
61983 5	156 6	158 5	GAGACCCTCCACCTTGT CCA	eeeeeddddddddeeee ee	47	1057 7	1059 6	1554
61983 6	156 9	158 8	AGTGAGACCCTCCACCT TGT	eeeeeddddddddeeee ee	52	1058 0	1059 9	1555
61983 7	157 2	159 1	GAAAGTGAGACCCTCCA CCT	eeeeeddddddddeeee ee	40	1058 3	1060 2	1556
61983 8	157 5	159 4	CTGGAAAGTGAGACCCT CCA	eeeeeddddddddeeee ee	55	1058 6	1060 5	1557
61983 9	157 8	159 7	TTGCTGGAAAGTGAGAC CCT	eeeeeddddddddeeee ee	44	1058 9	1060 8	1558
61984 0	158 1	160 0	GTTTTGCTGGAAAGTGA GAC	eeeeeddddddddeeee ee	50	1059 2	1061 1	1559
61984 1	158 4	160 3	GGAGTTTTGCTGGAAAG TGA	eeeeeddddddddeeee ee	54	1059 5	1061 4	1560
61984 2	158 7	160 6	GAGGGAGTTTTGCTGGA AAG	eeeeeddddddddeeee ee	35	1059 8	1061 7	1561
61984 3	159 0	160 9	GTTGAGGGAGTTTTGCT GGA	eeeeeddddddddeeee ee	40	1060 1	1062 0	1562
61984 4	159 3	161 2	CCAGTTGAGGGAGTTTT GCT	eeeeeddddddddeeee ee	32	1060 4	1062 3	1563
61984 5	159 6	161 5	CATCCAGTTGAGGGAGT TTT	eeeeeddddddddeeee ee	52	1060 7	1062 6	1564
61984 6	159 9	161 8	CTTCATCCAGTTGAGGG AGT	eeeeeddddddddeeee ee	56	1061 0	1062 9	1565

【 0 5 2 5 】

10

20

30

40

【表 1 1 - 5】

61984 7	160 2	162 1	TTTCTTCATCCAGTTGA GGG	eeeeeddddddddeee ee	38	1061 3	1063 2	1566
61984 8	160 5	162 4	TAGTTTCTTCATCCAGT TGA	eeeeeddddddddeee ee	29	1061 6	1063 5	1567
61984 9	160 8	162 7	AGATAGTTTCTTCATCC AGT	eeeeeddddddddeee ee	12	1061 9	1063 8	1568
61985 0	161 1	163 0	GGGAGATAGTTTCTTCA TCC	eeeeeddddddddeee ee	32	1062 2	1064 1	1569
61985 1	162 9	164 8	GGTCAGGTGGATGGTCC GGG	eeeeeddddddddeee ee	43	N/A	N/A	1570
61985 2	163 2	165 1	CATGGTCAGGTGGATGG TCC	eeeeeddddddddeee ee	41	1223 8	1225 7	1571
61985 3	163 5	165 4	GGGCATGGTCAGGTGGA TGG	eeeeeddddddddeee ee	57	1224 1	1226 0	1572
61985 4	165 3	167 2	TCCTTGCAAGCAGGT GGG	eeeeeddddddddeee ee	46	1225 9	1227 8	1573
61985 5	165 6	167 5	AGATCCTTGCAAGCAGCA GTT	eeeeeddddddddeee ee	36	1226 2	1228 1	1574
61985 6	165 9	167 8	ATAAGATCCTTGCAAGCA CCA	eeeeeddddddddeee ee	37	1226 5	1228 4	1575
61985 7	166 2	168 1	GTCATAAGATCCTTGCA GCA	eeeeeddddddddeee ee	35	1226 8	1228 7	1576
61985 8	166 5	168 4	CAGGTCATAAGATCCTT GCA	eeeeeddddddddeee ee	41	1227 1	1229 0	1577
61985 9	166 8	168 7	CTGCAGGTCATAAGATC CTT	eeeeeddddddddeee ee	32	1227 4	1229 3	1578
61986 0	167 1	169 0	GTCCTGCAGGTCATAAG ATC	eeeeeddddddddeee ee	47	1227 7	1229 6	1579
61986 1	167 4	169 3	CAGGTCCTGCAGGTCAT AAG	eeeeeddddddddeee ee	33	1228 0	1229 9	1580
61986 2	167 7	169 6	GAGCAGGTCCTGCAGGT CAT	eeeeeddddddddeee ee	53	1228 3	1230 2	1581
61986 3	168 0	169 9	GGCGAGCAGGTCCTGCA GGT	eeeeeddddddddeee ee	51	1228 6	1230 5	1582
61986 4	168 3	170 2	CTGGGCGAGCAGGTCCT GCA	eeeeeddddddddeee ee	50	1228 9	1230 8	1583
61986 5	168 6	170 5	AGCCTGGGCGAGCAGGT CCT	eeeeeddddddddeee ee	49	1229 2	1231 1	1584
61986 6	168 9	170 8	CTCAGCCTGGGCGAGCA GGT	eeeeeddddddddeee ee	63	1229 5	1231 4	1585
61986 7	169 2	171 1	CAGCTCAGCCTGGGCGA GCA	eeeeeddddddddeee ee	45	1229 8	1231 7	1586

【 0 5 2 6 】

10

20

30

40

【表 1 1 - 6】

61986	169	171	TGGCGGGCAGCTCAGCC	eeeeeddddddddeeee	46	1230	1232	
8	9	8	TGG	ee		5	4	1587
61986	170	172	GAATGGCGGGCAGCTCA	eeeeeddddddddeeee	46	1230	1232	
9	2	1	GCC	ee		8	7	1588
61987	170	172	GCAGAATGGCGGGCAGC	eeeeeddddddddeeee	41	1231	1233	
0	5	4	TCA	ee		1	0	1589
61987	170	172	TGTGCAGAATGGCGGGC	eeeeeddddddddeeee	44	1231	1233	
1	8	7	AGC	ee		4	3	1590
61987	171	173	CGGTGTGCAGAATGGCG	eeeeeddddddddeeee	36	1231	1233	
2	1	0	GGC	ee		7	6	1591
61987	171	173	GCTCGGTGTGCAGAATG	eeeeeddddddddeeee	63	1232	1233	
3	4	3	GCG	ee		0	9	1592
61987	171	173	TCAGCTCGGTGTGCAGA	eeeeeddddddddeeee	42	1232	1234	
4	7	6	ATG	ee		3	2	1593
61987	172	173	GGTTCAGCTCGGTGTGC	eeeeeddddddddeeee	62	1232	1234	
5	0	9	AGA	ee		6	5	1594
61987	172	174	GCAGGTTTCAGCTCGGTG	eeeeeddddddddeeee	73	1232	1234	
6	3	2	TGC	ee		9	8	1595
61987	172	174	TTTGCAGGTTTCAGCTCG	eeeeeddddddddeeee	52	1233	1235	
7	6	5	GTG	ee		2	1	1596
61987	172	174	ATTTTTCAGGTTTCAGC	eeeeeddddddddeeee	43	1233	1235	
8	9	8	TCG	ee		5	4	1597
61987	173	175	TCAATTTTTCAGGTTTC	eeeeeddddddddeeee	29	1233	1235	
9	2	1	AGC	ee		8	7	1598
61988	173	175	TGCTCAATTTTTCAGG	eeeeeddddddddeeee	72	1234	1236	
0	5	4	TTC	ee		1	0	1599
61988	173	175	CATTGCTCAATTTTTC	eeeeeddddddddeeee	36	1234	1236	
1	8	7	AGG	ee		4	3	1600
61988	174	176	GGTCATTGCTCAATTTT	eeeeeddddddddeeee	56	1234	1236	
2	1	0	TGC	ee		7	6	1601
61988	174	176	TGCGGTCAATTGCTCAAT	eeeeeddddddddeeee	45	1235	1236	
3	4	3	TTT	ee		0	9	1602
61988	174	176	TGATGCGGTCAATTGCTC	eeeeeddddddddeeee	51	1235	1237	
4	7	6	AAT	ee		3	2	1603
61988	175	176	CCCTGATGCGGTCAATTG	eeeeeddddddddeeee	77	1235	1237	
5	0	9	CTC	ee		6	5	1604
61988	175	177	CCACCCTGATGCGGTCA	eeeeeddddddddeeee	56	1235	1237	
6	3	2	TTG	ee		9	8	1605
61988	175	177	CCCCACCCTGATGCGG	eeeeeddddddddeeee	52	1236	1238	
7	6	5	TCA	ee		2	1	1606
61988	175	177	CCTCCCCACCCTGATG	eeeeeddddddddeeee	36	1236	1238	
8	9	8	CGG	ee		5	4	1607

【0 5 2 7】

10

20

30

40

【表 1 1 - 7】

61988 9	176 2	178 1	GCACCTCCCCACCCTG ATG	eeeeeddddddddeee ee	36	N/A	N/A	1608
61989 0	176 5	178 4	TCAGCACCTCCCCACC CTG	eeeeeddddddddeee ee	57	N/A	N/A	1609
61989 1	176 8	178 7	TGTTCAGCACCTCCCC ACC	eeeeeddddddddeee ee	60	N/A	N/A	1610
61989 2	177 1	179 0	TGCTGTTCAGCACCTCC CCC	eeeeeddddddddeee ee	65	N/A	N/A	1611
61989 3	177 4	179 3	AAATGCTGTTCAGCACC TCC	eeeeeddddddddeee ee	68	N/A	N/A	1612
61989 4	177 7	179 6	AAAAAATGCTGTTCAGC ACC	eeeeeddddddddeee ee	41	1324 6	1326 5	1613
61989 5	178 0	179 9	CAAAAAAATGCTGTTT AGC	eeeeeddddddddeee ee	40	1324 9	1326 8	1614
61989 6	178 3	180 2	GCTCAAAAAAATGCTG TTC	eeeeeddddddddeee ee	64	1325 2	1327 1	1615
61989 7	178 6	180 5	CAAGCTCAAAAAAATG CTG	eeeeeddddddddeee ee	44	1325 5	1327 4	1616
61989 8	178 9	180 8	CTTCAAGCTCAAAAAA ATG	eeeeeddddddddeee ee	15	1325 8	1327 7	1617
61989 9	179 2	181 1	CCGCTTCAAGCTCAAAA AAA	eeeeeddddddddeee ee	62	1326 1	1328 0	1618
61990 0	179 5	181 4	CATCCGCTTCAAGCTCA AAA	eeeeeddddddddeee ee	62	1326 4	1328 3	1619
61990 1	179 8	181 7	TCTCATCCGCTTCAAGC TCA	eeeeeddddddddeee ee	72	1326 7	1328 6	1620
61990 2	180 1	182 0	CTCTCTCATCCGCTTCA AGC	eeeeeddddddddeee ee	66	1327 0	1328 9	1621
61990 3	180 4	182 3	GCTCTCTCTCATCCGCT TCA	eeeeeddddddddeee ee	68	1327 3	1329 2	1622
61990 4	180 7	182 6	TGGGCTCTCTCTCATCC GCT	eeeeeddddddddeee ee	83	1327 6	1329 5	1623
61990 5	181 0	182 9	CTGTGGGCTCTCTCTCA TCC	eeeeeddddddddeee ee	80	1327 9	1329 8	1624
61990 6	181 3	183 2	ACTCTGTGGGCTCTCTC TCA	eeeeeddddddddeee ee	54	1328 2	1330 1	1625
61990 7	181 6	183 5	TAGACTCTGTGGGCTCT CTC	eeeeeddddddddeee ee	75	1328 5	1330 4	1626
61990 8	182 4	184 3	CTGTTGGGTAGACTCTG TGG	eeeeeddddddddeee ee	46	1329 3	1331 2	1627
61990 9	182 7	184 6	AAGCTGTTGGGTAGACT CTG	eeeeeddddddddeee ee	63	1329 6	1331 5	1628

【表 1 1 - 8】

61991 0	183 0	184 9	GTAAAGCTGTTGGGTAG ACT	eeeeeddddddddeeee ee	61	1329 9	1331 8	1629
61991 1	183 3	185 2	CTTGTTAAGCTGTTGGG TAG	eeeeeddddddddeeee ee	47	1330 2	1332 1	1630
61991 2	183 6	185 5	AGGCTTGTTAAGCTGTT GGG	eeeeeddddddddeeee ee	69	1330 5	1332 4	1631
61991 3	183 9	185 8	CTCAGGCTTGTTAAGCT GTT	eeeeeddddddddeeee ee	62	1330 8	1332 7	1632
61991 4	184 2	186 1	GACCTCAGGCTTGTTAA GCT	eeeeeddddddddeeee ee	55	1331 1	1333 0	1633
61991 5	184 5	186 4	CAAGACCTCAGGCTTGT TAA	eeeeeddddddddeeee ee	50	1331 4	1333 3	1634
61991 6	184 8	186 7	CTCCAAGACCTCAGGCT TGT	eeeeeddddddddeeee ee	60	1331 7	1333 6	1635
61991 7	185 1	187 0	CACCTCCAAGACCTCAG GCT	eeeeeddddddddeeee ee	61	1332 0	1333 9	1636
61991 8	185 4	187 3	GGTCACCTCCAAGACCT CAG	eeeeeddddddddeeee ee	67	1332 3	1334 2	1637
61991 9	185 7	187 6	CAGGGTCACCTCCAAGA CCT	eeeeeddddddddeeee ee	54	1332 6	1334 5	1638
61992 0	186 0	187 9	GTTCAGGGTCACCTCCA AGA	eeeeeddddddddeeee ee	54	1332 9	1334 8	1639
61992 1	186 3	188 2	GCGGTTTCAGGGTCACCT CCA	eeeeeddddddddeeee ee	70	1333 2	1335 1	1640
61992 2	187 3	189 2	ACAGGAATGGGCGGTTC AGG	eeeeeddddddddeeee ee	34	1334 2	1336 1	1641
61992 6	187 6	189 5	CAAACAGGAATGGGCGG TTC	eeeeeddddddddeeee ee	40	1334 5	1336 4	1642
61992 7	187 9	189 8	CAGCAAACAGGAATGGG CGG	eeeeeddddddddeeee ee	49	1334 8	1336 7	1643
61992 8	188 2	190 1	ACACAGCAAACAGGAAT GGG	eeeeeddddddddeeee ee	28	1335 1	1337 0	1644
61992 9	188 5	190 4	CATACACAGCAAACAGG AAT	eeeeeddddddddeeee ee	29	1335 4	1337 3	1645
61993 0	188 8	190 7	GATCATACACAGCAAAC AGG	eeeeeddddddddeeee ee	49	1335 7	1337 6	1646
61993 1	189 1	191 0	TTTGATCATACACAGCA AAC	eeeeeddddddddeeee ee	22	1336 0	1337 9	1647
61993 2	189 4	191 3	CGCTTTGATCATACACA GCA	eeeeeddddddddeeee ee	56	1336 3	1338 2	1648
61993 3	191 1	193 0	GAAGTGCAGGGCAGTGG CGC	eeeeeddddddddeeee ee	44	1338 0	1339 9	1649

【表 1 1 - 9】

61993 4	191 4	193 3	CAGGAAGTGCAGGGCAG TGG	eeeeeddddddddeee ee	39	1338 3	1340 2	1650
61993 5	191 7	193 6	GCCCAGGAAGTGCAGGG CAG	eeeeeddddddddeee ee	20	1338 6	1340 5	1651
61993 6	192 0	193 9	GCGGCCAGGAAGTGCA GGG	eeeeeddddddddeee ee	19	1338 9	1340 8	1652
61993 7	192 3	194 2	CACGCGGCCAGGAAGT GCA	eeeeeddddddddeee ee	34	1339 2	1341 1	1653
61993 8	192 6	194 5	GGCCACGCGGCCAGGA AGT	eeeeeddddddddeee ee	21	1339 5	1341 4	1654
61993 9	192 9	194 8	GTTGGCCACGCGGCCA GGA	eeeeeddddddddeee ee	34	1339 8	1341 7	1655
61994 0	193 2	195 1	CGGGTTGGCCACGCGGC CCA	eeeeeddddddddeee ee	38	1340 1	1342 0	1656
61994 1	193 5	195 4	CAGCGGGTTGGCCACGC GGC	eeeeeddddddddeee ee	42	1340 4	1342 3	1657
61994 2	193 8	195 7	GCTCAGCGGGTTGGCCA CGC	eeeeeddddddddeee ee	64	1340 7	1342 6	1658
61994 3	194 1	196 0	TGTGCTCAGCGGGTTGG CCA	eeeeeddddddddeee ee	43	1341 0	1342 9	1659
61994 4	194 4	196 3	TGCTGTGCTCAGCGGGT TGG	eeeeeddddddddeee ee	29	1341 3	1343 2	1660
61994 5	194 7	196 6	TCATGCTGTGCTCAGCG GGT	eeeeeddddddddeee ee	49	1341 6	1343 5	1661
61994 6	195 0	196 9	GCCTCATGTGTGCTCA GCG	eeeeeddddddddeee ee	74	1341 9	1343 8	1662
61994 7	195 3	197 2	CTGGCCTCATGTGTGC TCA	eeeeeddddddddeee ee	56	1342 2	1344 1	1663
61994 8	195 6	197 5	GCCCTGGCCTCATGTGTG TGC	eeeeeddddddddeee ee	44	1342 5	1344 4	1664
61994 9	197 6	199 5	GCCAGGCACTGTGTTCT GGG	eeeeeddddddddeee ee	65	1344 5	1346 4	1665
61995 0	197 9	199 8	CTTGCCAGGCACTGTGT TCT	eeeeeddddddddeee ee	71	1344 8	1346 7	1666
61995 1	198 2	200 1	GGCCTTGCCAGGCACTG TGT	eeeeeddddddddeee ee	80	1345 1	1347 0	1667
61995 2	211 4	213 3	AGGAGAAACGGCTGCTT TCC	eeeeeddddddddeee ee	61	1358 3	1360 2	1668
61995 3	211 7	213 6	CCAAGGAGAAACGGCTG CTT	eeeeeddddddddeee ee	75	1358 6	1360 5	1669
61995 4	212 0	213 9	AGACCAAGGAGAAACGG CTG	eeeeeddddddddeee ee	76	1358 9	1360 8	1670

【 0 5 3 0 】

10

20

30

40

【表 1 1 - 1 0】

61995	212	214	CTTAGACCAAGGAGAAA	eeeeeddddddddddeee	67	1359	1361	
5	3	2	CGG	ee		2	1	1671
61995	212	214	ACACTTAGACCAAGGAG	eeeeeddddddddddeee	45	1359	1361	
6	6	5	AAA	ee		5	4	1672
61995	212	214	AGCACACTTAGACCAAG	eeeeeddddddddddeee	74	1359	1361	
7	9	8	GAG	ee		8	7	1673
61995	213	215	TGCAGCACACTTAGACC	eeeeeddddddddddeee	55	1360	1362	
8	2	1	AAG	ee		1	0	1674
61995	213	215	CCATGCAGCACACTTAG	eeeeeddddddddddeee	56	1360	1362	
9	5	4	ACC	ee		4	3	1675
61996	213	215	ACTCCATGCAGCACACT	eeeeeddddddddddeee	66	1360	1362	
0	8	7	TAG	ee		7	6	1676
61996	214	216	CTCACTCCATGCAGCAC	eeeeeddddddddddeee	63	1361	1362	
1	1	0	ACT	ee		0	9	1677
61996	215	217	CGCTGCAGGCTTCTACT	eeeeeddddddddddeee	64	1362	1364	
2	9	8	GCT	ee		8	7	1678
61996	216	218	TGCCGCTGCAGGCTTCT	eeeeeddddddddddeee	60	1363	1365	
3	2	1	ACT	ee		1	0	1679
61996	216	218	TTGTGCCGCTGCAGGCT	eeeeeddddddddddeee	45	1363	1365	
4	5	4	TCT	ee		4	3	1680
61996	216	218	CATTTGTGCCGCTGCAG	eeeeeddddddddddeee	62	1363	1365	
5	8	7	GCT	ee		7	6	1681
61996	217	219	GTGCATTTGTGCCGCTG	eeeeeddddddddddeee	85	1364	1365	
6	1	0	CAG	ee		0	9	1682
61996	217	219	GAGGTGCATTTGTGCCG	eeeeeddddddddddeee	80	1364	1366	
7	4	3	CTG	ee		3	2	1683
61996	217	219	TGGGAGGTGCATTTGTG	eeeeeddddddddddeee	53	1364	1366	
8	7	6	CCG	ee		6	5	1684
61996	218	219	AACTGGGAGGTGCATTT	eeeeeddddddddddeee	34	1364	1366	
9	0	9	GTG	ee		9	8	1685
61997	218	220	GCAAACTGGGAGGTGCA	eeeeeddddddddddeee	62	1365	1367	
0	3	2	TTT	ee		2	1	1686
61997	218	220	CCAGCAAACCTGGGAGGT	eeeeeddddddddddeee	76	1365	1367	
1	6	5	GCA	ee		5	4	1687
61997	218	220	AACCCAGCAAACCTGGGA	eeeeeddddddddddeee	56	1365	1367	
2	9	8	GGT	ee		8	7	1688
61997	219	221	ATAAACCCAGCAAACCTG	eeeeeddddddddddeee	56	1366	1368	
3	2	1	GGA	ee		1	0	1689
61997	219	221	AAAATAAACCCAGCAAA	eeeeeddddddddddeee	33	1366	1368	
4	5	4	CTG	ee		4	3	1690
61997	219	221	TCTAAAATAAACCCAGC	eeeeeddddddddddeee	29	1366	1368	
5	8	7	AAA	ee		7	6	1691

【 0 5 3 1 】

10

20

30

40

【表 1 1 - 1 1】

61997 6	220 1	222 0	TTCTCTAAATAAACCC AGC	eeeeeddddddddeeee ee	58	1367 0	1368 9	1692
61997 7	220 4	222 3	CCATTCTCTAAATAAA CCC	eeeeeddddddddeeee ee	55	1367 3	1369 2	1693
61997 8	220 7	222 6	CCCCATTCTCTAAAT AAA	eeeeeddddddddeeee ee	49	1367 6	1369 5	1694
61997 9	221 0	222 9	CCACCCCATTTCTCTAA AAT	eeeeeddddddddeeee ee	19	1367 9	1369 8	1695
61998 0	221 3	223 2	TCCCCACCCCATTTCTC TAA	eeeeeddddddddeeee ee	41	1368 2	1370 1	1696
61998 1	221 6	223 5	GCCTCCCCACCCCATTT CTC	eeeeeddddddddeeee ee	53	1368 5	1370 4	1697
61998 2	221 9	223 8	CTTGCCTCCCCACCCCC ATT	eeeeeddddddddeeee ee	56	1368 8	1370 7	1698
61998 3	222 2	224 1	GTTCTTGCCTCCCCACC CCC	eeeeeddddddddeeee ee	72	1369 1	1371 0	1699
61998 4	222 5	224 4	CTGGTTCTTGCCTCCCC ACC	eeeeeddddddddeeee ee	82	1369 4	1371 3	1700
61998 5	222 8	224 7	ACACTGGTTCTTGCCTC CCC	eeeeeddddddddeeee ee	74	1369 7	1371 6	1701
61998 6	223 1	225 0	TAAACACTGGTTCTTGC CTC	eeeeeddddddddeeee ee	72	1370 0	1371 9	1702
61998 7	223 4	225 3	CGCTAAACACTGGTTCT TGC	eeeeeddddddddeeee ee	93	1370 3	1372 2	1703
61998 8	223 7	225 6	CCGCGCTAAACACTGGT TCT	eeeeeddddddddeeee ee	82	1370 6	1372 5	1704
61998 9	224 0	225 9	GTCCGCGCTAAACACT GGT	eeeeeddddddddeeee ee	75	1370 9	1372 8	1705
61999 0	224 3	226 2	GTAGTCCCGCGCTAAAC ACT	eeeeeddddddddeeee ee	73	1371 2	1373 1	1706
61999 1	224 6	226 5	ACAGTAGTCCCGCGCTA AAC	eeeeeddddddddeeee ee	64	1371 5	1373 4	1707
61999 2	224 9	226 8	GGAACAGTAGTCCCGCG CTA	eeeeeddddddddeeee ee	85	1371 8	1373 7	1708
61999 3	225 2	227 1	TTTGAACAGTAGTCCC GCG	eeeeeddddddddeeee ee	65	1372 1	1374 0	1709
61999 4	225 5	227 4	CTTTTGAACAGTAGT CCC	eeeeeddddddddeeee ee	69	1372 4	1374 3	1710
61999 5	225 8	227 7	ATTCTTTTGAACAGT AGT	eeeeeddddddddeeee ee	53	1372 7	1374 6	1711
61999 6	226 1	228 0	GGAATTCTTTTGAAC AGT	eeeeeddddddddeeee ee	70	1373 0	1374 9	1712

【表 1 1 - 1 2】

61999 7	226 4	228 3	GTTGGAATTCTTTTGG AAC	eeeeeddddddddeeee ee	57	1373 3	1375 2	1713
61999 8	226 7	228 6	TCGGTTGGAATTCTTT TGG	eeeeeddddddddeeee ee	83	1373 6	1375 5	1714
61999 9	227 0	228 9	TGGTCGGTTGGAATTCT TTT	eeeeeddddddddeeee ee	74	1373 9	1375 8	1715
62000 0	227 3	229 2	AGCTGGTCGGTTGGAAT TCT	eeeeeddddddddeeee ee	78	1374 2	1376 1	1716
62000 1	227 6	229 5	ACAAGCTGGTCGGTTGG AAT	eeeeeddddddddeeee ee	61	1374 5	1376 4	1717
62000 2	227 9	229 8	CAACAAGCTGGTCGGT TGG	eeeeeddddddddeeee ee	61	1374 8	1376 7	1718
62000 3	228 2	230 1	TCACAAACAAGCTGGTC GGT	eeeeeddddddddeeee ee	88	1375 1	1377 0	1719
62000 4	228 5	230 4	GTTTCACAAACAAGCTG GTC	eeeeeddddddddeeee ee	91	1375 4	1377 3	1720
62000 5	228 8	230 7	TTTGTTCACAAACAAG CTG	eeeeeddddddddeeee ee	73	1375 7	1377 6	1721
62000 6	230 4	232 3	GAAAAGGGAACACTTTT TTG	eeeeeddddddddeeee ee	59	1377 3	1379 2	1722
62000 7	230 7	232 6	CTTGAAAAGGGAACACT TTT	eeeeeddddddddeeee ee	57	1377 6	1379 5	1723
62000 8	231 0	232 9	CAACTTGAAAAGGGAAC ACT	eeeeeddddddddeeee ee	88	1377 9	1379 8	1724
62000 9	231 3	233 2	TCTCAACTTGAAAAGGG AAC	eeeeeddddddddeeee ee	88	1378 2	1380 1	1725
62001 0	231 6	233 5	TGTTCTCAACTTGAAAA GGG	eeeeeddddddddeeee ee	93	1378 5	1380 4	1726
62001 1	231 9	233 8	TTTTGTCTCAACTTGA AAA	eeeeeddddddddeeee ee	49	1378 8	1380 7	1727
62001 2	232 2	234 1	AATTTTGTCTCAACT TGA	eeeeeddddddddeeee ee	63	1379 1	1381 0	1728
62001 3	232 5	234 4	CCCAATTTTGTCTCA ACT	eeeeeddddddddeeee ee	89	1379 4	1381 3	1729
62001 4	232 8	234 7	AAACCAATTTTGTTC TCA	eeeeeddddddddeeee ee	78	1379 7	1381 6	1730
62001 5	233 1	235 0	TTAAACCAATTTTGT TTC	eeeeeddddddddeeee ee	68	1380 0	1381 9	1731
62001 6	233 4	235 3	ATTTTAAACCAATTT TTG	eeeeeddddddddeeee ee	15	1380 3	1382 2	1732
62001 7	233 7	235 6	TTAATTTTAAACCAAA TTT	eeeeeddddddddeeee ee	15	1380 6	1382 5	1733

【 0 5 3 3 】

10

20

30

40

【表 1 1 - 1 3】

62001 8	235 3	237 2	TGCAAAAATGTATACTT TAA	eeeeeddddddddeee ee	32	1382 2	1384 1	1734
62001 9	235 6	237 5	CAATGCAAAAATGTATA CTT	eeeeeddddddddeee ee	64	1382 5	1384 4	1735
62002 0	235 9	237 8	AGGCAATGCAAAAATGT ATA	eeeeeddddddddeee ee	76	1382 8	1384 7	1736
62002 1	236 2	238 1	CGAAGGCAATGCAAAAA TGT	eeeeeddddddddeee ee	50	1383 1	1385 0	1737
62002 2	236 5	238 4	AACCGAAGGCAATGCAA AAA	eeeeeddddddddeee ee	55	1383 4	1385 3	1738
62002 3	236 8	238 7	ACAAACCGAAGGCAATG CAA	eeeeeddddddddeee ee	68	1383 7	1385 6	1739
62002 4	237 1	239 0	AATACAAACCGAAGGCA ATG	eeeeeddddddddeee ee	68	1384 0	1385 9	1740
62002 5	237 4	239 3	CTAAATACAAACCGAAG GCA	eeeeeddddddddeee ee	64	1384 3	1386 2	1741
62002 6	237 7	239 6	ACACTAAATACAAACCG AAG	eeeeeddddddddeee ee	49	1384 6	1386 5	1742
62002 7	238 0	239 9	AAGACACTAAATACAAA CCG	eeeeeddddddddeee ee	53	1384 9	1386 8	1743
62002 8	238 3	240 2	TTCAAGACACTAAATAC AAA	eeeeeddddddddeee ee	31	1385 2	1387 1	1744
62002 9	238 6	240 5	ACATTCAAGACACTAAA TAC	eeeeeddddddddeee ee	35	1385 5	1387 4	1745
62003 0	238 9	240 8	CTTACATTCAAGACACT AAA	eeeeeddddddddeee ee	57	1385 8	1387 7	1746
62003 1	239 2	241 1	GTTCTTACATTCAAGAC ACT	eeeeeddddddddeee ee	54	1386 1	1388 0	1747
62003 2	239 5	241 4	CATGTTCTTACATTCAA GAC	eeeeeddddddddeee ee	39	1386 4	1388 3	1748
62003 3	239 8	241 7	GGTCATGTTCTTACATT CAA	eeeeeddddddddeee ee	58	1386 7	1388 6	1749
62003 4	240 1	242 0	GGAGGTCATGTTCTTAC ATT	eeeeeddddddddeee ee	51	1387 0	1388 9	1750
62003 5	240 4	242 3	CACGGAGGTCATGTTCT TAC	eeeeeddddddddeee ee	61	1387 3	1389 2	1751
62003 6	240 7	242 6	CTACACGGAGGTCATGT TCT	eeeeeddddddddeee ee	53	1387 6	1389 5	1752
62003 7	241 0	242 9	ACACTACACGGAGGTCA TGT	eeeeeddddddddeee ee	44	1387 9	1389 8	1753
62003 8	241 3	243 2	CAGACACTACACGGAGG TCA	eeeeeddddddddeee ee	50	1388 2	1390 1	1754

10

20

30

40

【表 1 1 - 1 4】

62003 9	241 6	243 5	TTACAGACACTACACGG AGG	eeeeeddddddddeeee ee	66	1388 5	1390 4	1755
62004 0	241 9	243 8	GTATTACAGACACTACA CGG	eeeeeddddddddeeee ee	53	1388 8	1390 7	1756
62004 1	242 2	244 1	AAGGTATTACAGACACT ACA	eeeeeddddddddeeee ee	57	1389 1	1391 0	1757
62004 2	242 5	244 4	ACTAAGGTATTACAGAC ACT	eeeeeddddddddeeee ee	50	1389 4	1391 3	1758
62004 3	242 8	244 7	AAACTAAGGTATTACA GAC	eeeeeddddddddeeee ee	28	1389 7	1391 6	1759
62004 4	243 1	245 0	GAAAAAACTAAGGTATT ACA	eeeeeddddddddeeee ee	19	1390 0	1391 9	1760
62004 5	243 4	245 3	GTGGAAAAAACTAAGGT ATT	eeeeeddddddddeeee ee	36	1390 3	1392 2	1761
62004 6	243 7	245 6	TCTGTGGAAAAAACTAA GGT	eeeeeddddddddeeee ee	38	1390 6	1392 5	1762
62004 7	244 0	245 9	GCATCTGTGGAAAAAAC TAA	eeeeeddddddddeeee ee	29	1390 9	1392 8	1763
62004 8	244 3	246 2	CAAGCATCTGTGAAAAA AAC	eeeeeddddddddeeee ee	21	1391 2	1393 1	1764
62004 9	244 6	246 5	TCACAAGCATCTGTGGA AAA	eeeeeddddddddeeee ee	30	1391 5	1393 4	1765
62005 0	244 9	246 8	AAATCACAAGCATCTGT GGA	eeeeeddddddddeeee ee	36	1391 8	1393 7	1766
62005 1	245 2	247 1	CAAAAATCACAAGCATC TGT	eeeeeddddddddeeee ee	19	1392 1	1394 0	1767
62005 2	245 5	247 4	GTTCAAAAATCACAAGC ATC	eeeeeddddddddeeee ee	32	1392 4	1394 3	1768
62005 3	245 8	247 7	ATTGTTCAAAAATCACA AGC	eeeeeddddddddeeee ee	16	1392 7	1394 6	1769
62005 4	246 1	248 0	CGTATTGTTCAAAAATC ACA	eeeeeddddddddeeee ee	30	1393 0	1394 9	1770
62005 5	247 9	249 8	AGGTGCTTGCATCTTTC ACG	eeeeeddddddddeeee ee	61	1394 8	1396 7	1771
62005 6	248 2	250 1	TTCAGGTGCTTGCATCT TTC	eeeeeddddddddeeee ee	58	1395 1	1397 0	1772
62005 7	248 5	250 4	AAATTGAGGTGCTTGCA TCT	eeeeeddddddddeeee ee	35	1395 4	1397 3	1773
62005 8	248 8	250 7	CAGAAATTCAGGTGCTT GCA	eeeeeddddddddeeee ee	58	1395 7	1397 6	1774
62005 9	249 1	251 0	AAACAGAAATTCAGGTG CTT	eeeeeddddddddeeee ee	51	1396 0	1397 9	1775

【 0 5 3 5】

10

20

30

40

【表 1 1 - 1 5】

62006 0	249 4	251 3	TTCAAACAGAAATTCAG GTG	eeeeeddddddddeeee ee	46	1396 3	1398 2	1776
62006 1	249 7	251 6	GCATTCAAACAGAAATT CAG	eeeeeddddddddeeee ee	40	1396 6	1398 5	1777
62006 2	250 0	251 9	TCCGCATTCAAACAGAA ATT	eeeeeddddddddeeee ee	73	1396 9	1398 8	1778
62006 3	250 3	252 2	GGTTCCGCATTCAAACA GAA	eeeeeddddddddeeee ee	54	1397 2	1399 1	1779
62006 4	250 6	252 5	TATGGTTCCGCATTCAA ACA	eeeeeddddddddeeee ee	44	1397 5	1399 4	1780
62006 5	250 9	252 8	AGCTATGGTTCCGCATT CAA	eeeeeddddddddeeee ee	67	1397 8	1399 7	1781
62006 6	251 2	253 1	ACCAGCTATGGTTCCGC ATT	eeeeeddddddddeeee ee	60	1398 1	1400 0	1782
62006 7	251 5	253 4	ATAACCAGCTATGGTTC CGC	eeeeeddddddddeeee ee	70	1398 4	1400 3	1783
62006 8	251 8	253 7	GAAATAACCAGCTATGG TTC	eeeeeddddddddeeee ee	50	1398 7	1400 6	1784
62006 9	252 1	254 0	GGAGAAATAACCAGCTA TGG	eeeeeddddddddeeee ee	50	1399 0	1400 9	1785
62007 0	252 4	254 3	AAGGGAGAAATAACCAG CTA	eeeeeddddddddeeee ee	56	1399 3	1401 2	1786
62007 1	252 7	254 6	CACAAGGGAGAAATAAC CAG	eeeeeddddddddeeee ee	53	1399 6	1401 5	1787
62007 2	253 0	254 9	TAACACAAGGGAGAAAT AAC	eeeeeddddddddeeee ee	27	1399 9	1401 8	1788
62007 3	253 3	255 2	TACTAACACAAGGGAGA AAT	eeeeeddddddddeeee ee	39	1400 2	1402 1	1789
62007 4	253 6	255 5	TATTACTAACACAAGGG AGA	eeeeeddddddddeeee ee	52	1400 5	1402 4	1790
62007 5	253 9	255 8	GTTTATTACTAACACAA GGG	eeeeeddddddddeeee ee	56	1400 8	1402 7	1791
62007 6	255 8	257 7	AGGCTTATTGTGGCAAG ACG	eeeeeddddddddeeee ee	50	1402 7	1404 6	1792
62007 7	256 1	258 0	TGGAGGCTTATTGTGGC AAG	eeeeeddddddddeeee ee	38	1403 0	1404 9	1793
62007 8	256 4	258 3	TTTTGGAGGCTTATTGT GGC	eeeeeddddddddeeee ee	22	1403 3	1405 2	1794
62007 9	256 7	258 6	TTTTTTGGAGGCTTAT TGT	eeeeeddddddddeeee ee	48	N/A	N/A	1795

【0 5 3 6】

表 1 1 は、2 0 , 0 0 0 細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して 5 0 0 nM のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした H e p G 2 細胞中での A G T mRNA 阻害を示す。約 2 4 時間の処置期間後、RNA を細胞から単離し、A G T mRNA レベルを定量リアルタイム PCR によって測定した。ヒトプライマープローブセット R T S 3 7 2 1 を使用して mRNA レベルを測定した。R I B O G R E

EN（登録商標）によって測定した全RNA含量に従ってAGT mRNAレベルを調整した。無処置の対照細胞に対するAGTの阻害率（%）として結果を示す。

【0537】

【表12-1】

表11

配列番号1及び／または2を標的にするMOE及び／またはcEt含有ギャップマーによるAGT mRNA阻害

ISIS 番号	配列 番号 1 開 始部 位	配列 番号 1 終 止部 位	配列	化学的構造	阻害率 (%)	配列 番号 2 開 始部 位	配列 番号 2: 終 止部 位	配 列 番 号
568637	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekkkkkkkkkkkkk	62	13515	13530	129
594621	2022	2037	CTGCTGCTGGCCTTTG	kkkkkkkkkkkkkkkk	16	13491	13506	162
594622	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	kkkkkkkkkkkkkkkk	44	13496	13511	163
594623	2032	2047	GGGTGTTATCTGCTG	kkkkkkkkkkkkkkkk	32	13501	13516	164
594624	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	kkkkkkkkkkkkkkkk	62	13515	13530	129
594625	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	kkkkkkkkkkkkkkkk	49	13516	13531	165
594626	2049	2064	CATCGCTGATTTGTCC	kkkkkkkkkkkkkkkk	36	13518	13533	166
594627	2053	2068	GACACATCGCTGATTT	kkkkkkkkkkkkkkkk	0	13522	13537	167
594628	2073	2088	AAAGGTGGGAGACTGG	kkkkkkkkkkkkkkkk	51	13542	13557	168
609078	2020	2035	GCTGCTGGCCTTTGCC	kkkkkkkkkkkkkkkk	26	13489	13504	173
609079	2021	2036	TGCTGCTGGCCTTTGC	kkkkkkkkkkkkkkkk	31	13490	13505	174
609080	2023	2038	TCTGCTGCTGGCCTTT	kkkkkkkkkkkkkkkk	41	13492	13507	175
609081	2024	2039	ATCTGCTGCTGGCCTT	kkkkkkkkkkkkkkkk	29	13493	13508	176
609082	2025	2040	TATCTGCTGCTGGCCT	kkkkkkkkkkkkkkkk	43	13494	13509	177
609083	2026	2041	TTATCTGCTGCTGGCC	kkkkkkkkkkkkkkkk	19	13495	13510	178
609084	2028	2043	TGTTATCTGCTGCTGG	kkkkkkkkkkkkkkkk	0	13497	13512	179
609085	2029	2044	TTGTTATCTGCTGCTG	kkkkkkkkkkkkkkkk	40	13498	13513	180
609086	2030	2045	GTTGTTATCTGCTGCT	kkkkkkkkkkkkkkkk	67	13499	13514	181
609087	2031	2046	GGTTGTTATCTGCTGC	kkkkkkkkkkkkkkkk	73	13500	13515	182
609088	2048	2063	ATCGCTGATTTGTCCG	kkkkkkkkkkkkkkkk	59	13517	13532	183
609089	2050	2065	ACATCGCTGATTTGTC	kkkkkkkkkkkkkkkk	47	13519	13534	184
609090	2051	2066	CACATCGCTGATTTGT	kkkkkkkkkkkkkkkk	34	13520	13535	185
609091	2052	2067	ACACATCGCTGATTTG	kkkkkkkkkkkkkkkk	59	13521	13536	186
609092	2054	2069	TGACACATCGCTGATT	kkkkkkkkkkkkkkkk	27	13523	13538	187
609093	2055	2070	GTGACACATCGCTGAT	kkkkkkkkkkkkkkkk	38	13524	13539	188
609094	2056	2071	GGTGACACATCGCTGA	kkkkkkkkkkkkkkkk	51	13525	13540	130
609095	2057	2072	GGGTGACACATCGCTG	kkkkkkkkkkkkkkkk	59	13526	13541	189
609096	2074	2089	AAAAGGTGGGAGACTG	kkkkkkkkkkkkkkkk	20	13543	13558	190
609097	2075	2090	GAAAAGGTGGGAGACT	kkkkkkkkkkkkkkkk	19	13544	13559	131
609098	2076	2091	AGAAAAGGTGGGAGAC	kkkkkkkkkkkkkkkk	12	13545	13560	191
622201	2020	2035	GCTGCTGGCCTTTGCC	ekkkkkkkkkkkkkkk	29	13489	13504	173
622202	2021	2036	TGCTGCTGGCCTTTGC	ekkkkkkkkkkkkkkk	17	13490	13505	174

【0538】

【表 1 2 - 2】

622203	2022	2037	CTGCTGCTGGCCTTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	28	13491	13506	162
622204	2023	2038	TCTGCTGCTGGCCTTT	ekkkkkkkkkkkkkke	23	13492	13507	175
622205	2024	2039	ATCTGCTGCTGGCCTT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13493	13508	176
622206	2025	2040	TATCTGCTGCTGGCCT	ekkkkkkkkkkkkkke	22	13494	13509	177
622207	2026	2041	TTATCTGCTGCTGGCC	ekkkkkkkkkkkkkke	16	13495	13510	178
622208	2027	2042	GTTATCTGCTGCTGGC	ekkkkkkkkkkkkkke	29	13496	13511	163
622209	2028	2043	TGTTATCTGCTGCTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	37	13497	13512	179
622210	2029	2044	TTGTTATCTGCTGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	44	13498	13513	180
622211	2030	2045	GTTGTTATCTGCTGCT	ekkkkkkkkkkkkkke	61	13499	13514	181
622212	2031	2046	GGTTGTTATCTGCTGC	ekkkkkkkkkkkkkke	51	13500	13515	182
622213	2032	2047	GGGTTGTTATCTGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	44	13501	13516	164
622214	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	62	13515	13530	129
622215	2047	2062	TCGCTGATTTGTCCGG	ekkkkkkkkkkkkkke	47	13516	13531	165
622216	2048	2063	ATCGCTGATTTGTCCG	ekkkkkkkkkkkkkke	55	13517	13532	183
622217	2049	2064	CATCGCTGATTTGTCC	ekkkkkkkkkkkkkke	11	13518	13533	166
622218	2050	2065	ACATCGCTGATTTGTC	ekkkkkkkkkkkkkke	33	13519	13534	184
622219	2051	2066	CACATCGCTGATTTGT	ekkkkkkkkkkkkkke	41	13520	13535	185
622220	2052	2067	ACACATCGCTGATTTG	ekkkkkkkkkkkkkke	49	13521	13536	186
622221	2053	2068	GACACATCGCTGATTT	ekkkkkkkkkkkkkke	52	13522	13537	167
622222	2054	2069	TGACACATCGCTGATT	ekkkkkkkkkkkkkke	34	13523	13538	187
622223	2055	2070	GTGACACATCGCTGAT	ekkkkkkkkkkkkkke	32	13524	13539	188
622224	2056	2071	GGTGACACATCGCTGA	ekkkkkkkkkkkkkke	45	13525	13540	130
622225	2057	2072	GGGTGACACATCGCTG	ekkkkkkkkkkkkkke	58	13526	13541	189
622226	2073	2088	AAAGGTGGGAGACTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	18	13542	13557	168
622227	2074	2089	AAAAGGTGGGAGACTG	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13543	13558	190
622228	2075	2090	GAAAAGGTGGGAGACT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13544	13559	131
622229	2076	2091	AGAAAAGGTGGGAGAC	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13545	13560	191
622230	2080	2095	TAGAAGAAAAGGTGGG	ekkkkkkkkkkkkkke	12	13549	13564	192
622231	2081	2096	TTAGAAGAAAAGGTGG	ekkkkkkkkkkkkkke	22	13550	13565	193
622232	2082	2097	ATTAGAAGAAAAGGTG	ekkkkkkkkkkkkkke	7	13551	13566	169
622233	2083	2098	CATTAGAAGAAAAGGT	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13552	13567	194
622234	2084	2099	TCATTAGAAGAAAAGG	ekkkkkkkkkkkkkke	20	13553	13568	195
622235	2085	2100	CTCATTAGAAGAAAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	4	13554	13569	196
622236	2086	2101	ACTCATTAGAAGAAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	0	13555	13570	197
622237	2087	2102	GACTCATTAGAAGAAA	ekkkkkkkkkkkkkke	22	13556	13571	198
622238	2088	2103	CGACTCATTAGAAGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	46	13557	13572	132
622239	2089	2104	TCGACTCATTAGAAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	33	13558	13573	199
622240	2090	2105	GTCGACTCATTAGAAG	ekkkkkkkkkkkkkke	6	13559	13574	170
622241	2091	2106	AGTCGACTCATTAGAA	ekkkkkkkkkkkkkke	33	13560	13575	200
622242	2092	2107	AAGTCGACTCATTAGA	ekkkkkkkkkkkkkke	31	13561	13576	201
622243	2093	2108	AAAGTCGACTCATTAG	ekkkkkkkkkkkkkke	16	13562	13577	202

【表 1 2 - 3】

622244	2094	2109	CAAAGTCGACTCATTA	ekkkkkkkkkkkkkke	28	13563	13578	203
622245	2095	2110	TCAAAGTCGACTCATT	ekkkkkkkkkkkkkke	16	13564	13579	171
622246	2096	2111	CTCAAAGTCGACTCAT	ekkkkkkkkkkkkkke	25	13565	13580	204
622247	2097	2112	GCTCAAAGTCGACTCA	ekkkkkkkkkkkkkke	43	13566	13581	205
622248	2098	2113	AGCTCAAAGTCGACTC	ekkkkkkkkkkkkkke	39	13567	13582	206
622249	2099	2114	CAGCTCAAAGTCGACT	ekkkkkkkkkkkkkke	17	13568	13583	172

【0 5 4 0】

10

表 1 2 は、アンチセンスオリゴヌクレオチドによる A G T mRNA 阻害率 (%) を示す。約 2 0, 0 0 0 細胞 / ウェルの密度で培養した H e p G 2 細胞に、エレクトロポレーションを使用して、3, 0 0 0 n M のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした。約 2 4 時間の処置期間後、RNA を細胞から単離し、A G T mRNA レベルを定量リアルタイム P C R によって測定した。ヒトプライマープローブセット R T S 3 7 2 1 を使用して mRNA レベルを測定した。R I B O G R E E N (登録商標) によって測定した全 RNA 含量に従って A G T mRNA レベルを調整した。無処置の対照細胞に対する A G T の阻害率 (%) として結果を示す。

【0 5 4 1】

【表 1 3 - 1】

表 1 2

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする M O E 及び／または c E t 含有ギャップマーによる A G T m R N A 阻害

ISIS 番号	配列 番号 1 開 始部 位	配列 番号 1 終 止部 位	配列	化学的構造	阻 害 率 (%)	配列 番号 2 開 始部 位	配列 番号 2: 終 止部 位	配列 番号
56863 7	204 6	206 1	CGCTGATTGTCCGGG	eekdddddddddkke	8 8	1351 5	1353 0	129
61000 6	202 3	204 2	GTTATCTGCTGCTGGCC TTT	eeeeeddddddddeee eee	6 0	1349 2	1351 1	230
61000 9	202 6	204 5	GTTGTTATCTGCTGCTG GCC	eeeeeddddddddeee eee	3 8	1349 5	1351 4	233
61001 0	202 7	204 6	GGTTGTTATCTGCTGCT GGC	eeeeeddddddddeee eee	6 6	1349 6	1351 5	234
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeeddddddddeee eee	7 2	1351 8	1353 7	239
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeeddddddddeee eee	2 5	1351 8	1353 7	239
65435 4	636	655	ACTCTCATTGTGGATGA CGA	eeeeeddddddddeee eee	4 1	5853	5872	179 6
65435 5	640	659	AGGTACTCTCATTGTGG ATG	eeeeeddddddddeee eee	2 6	5857	5876	179 7
65435 6	642	661	ACAGGTACTCTCATTGT GGA	eeeeeddddddddeee eee	1 6	5859	5878	179 8
65435 7	646	665	GCTCACAGGTACTCTCA TTG	eeeeeddddddddeee eee	1 8	5863	5882	179 9
65435 8	757	776	GCACCAGCTGGTCCTGT AGG	eeeeeddddddddeee eee	1 0	5974	5993	180 0
65435 9	759	778	TAGCACCAGCTGGTCCT GTA	eeeeeddddddddeee eee	2 4	5976	5995	180 1

10

20

30

【 0 5 4 2 】

【表 1 3 - 2】

65436 0	760	779	CTAGCACCAGCTGGTCC TGT	eeeeeddddddddee eee	1 3	5977	5996	180 2
65436 1	763	782	CGACTAGCACCAGCTGG TCC	eeeeeddddddddee eee	1	5980	5999	180 3
65436 2	765	784	AGCGACTAGCACCAGCT GGT	eeeeeddddddddee eee	2 8	5982	6001	180 4
65436 3	769	788	TTGCAGCGACTAGCACC AGC	eeeeeddddddddee eee	1 8	5986	6005	180 5
65436 4	771	790	TTTTGCAGCGACTAGCA CCA	eeeeeddddddddee eee	9	5988	6007	180 6
65436 5	775	794	CAAGTTTTCAGCGACT AGC	eeeeeddddddddee eee	0	5992	6011	180 7
65436 6	126 7	128 6	CTGTCACAGCCTGCATG AAC	eeeeeddddddddee eee	1 5	6484	6503	180 8
65436 7	126 9	128 8	TCCTGTCACAGCCTGCA TGA	eeeeeddddddddee eee	3 4	6486	6505	180 9
65436 8	127 0	128 9	ATCCTGTCACAGCCTGC ATG	eeeeeddddddddee eee	3 4	6487	6506	181 0
65436 9	127 3	129 2	TCCATCCTGTCACAGCC TGC	eeeeeddddddddee eee	3 2	6490	6509	181 1
65437 0	127 5	129 4	CTTCCATCCTGTCACAG CCT	eeeeeddddddddee eee	5 0	6492	6511	181 2
65437 1	146 0	147 9	TCACTCCAGTGCTGAA GGT	eeeeeddddddddee eee	0	1047 1	1049 0	181 3
65437 2	146 2	148 1	TGTCCTCCAGTGCTGG AAG	eeeeeddddddddee eee	1 8	1047 3	1049 2	181 4
65437 3	146 3	148 2	ATGTCCTCCAGTGCTG GAA	eeeeeddddddddee eee	6	1047 4	1049 3	181 5
65437 4	146 6	148 5	TGGATGTCCTCCAGTG CTG	eeeeeddddddddee eee	2 6	1047 7	1049 6	181 6
65437 5	146 8	148 7	CCTGGATGTCCTCCAG TGC	eeeeeddddddddee eee	2 0	1047 9	1049 8	181 7
65437 6	211 5	213 4	AAGGAGAAACGGCTGCT TTC	eeeeeddddddddee eee	1 9	1358 4	1360 3	181 8
65437 7	211 6	213 5	CAAGGAGAAACGGCTGC TTT	eeeeeddddddddee eee	4 0	1358 5	1360 4	181 9
65437 8	211 8	213 7	ACCAAGGAGAAACGGCT GCT	eeeeeddddddddee eee	4 8	1358 7	1360 6	182 0
65437 9	211 9	213 8	GACCAAGGAGAAACGGC TGC	eeeeeddddddddee eee	5 7	1358 8	1360 7	182 1
65438 0	212 1	214 0	TAGACCAAGGAGAAACG GCT	eeeeeddddddddee eee	4 6	1359 0	1360 9	182 2

【0 5 4 3】

10

20

30

40

【表 1 3 - 3】

65438	212	214	TTAGACCAAGGAGAAAC	eeeeeddddddddee	3	1359	1361	182
1	2	1	GGC	eee	2	1	0	3
65438	212	214	ACTTAGACCAAGGAGAA	eeeeeddddddddee	4	1359	1361	182
2	4	3	ACG	eee	2	3	2	4
65438	212	214	CACTTAGACCAAGGAGA	eeeeeddddddddee	2	1359	1361	182
3	5	4	AAC	eee	9	4	3	5
65438	212	214	CACACTTAGACCAAGGA	eeeeeddddddddee	2	1359	1361	182
4	7	6	GAA	eee	1	6	5	6
65438	212	214	GCACACTTAGACCAAGG	eeeeeddddddddee	6	1359	1361	182
5	8	7	AGA	eee	5	7	6	7
65438	213	214	CAGCACACTTAGACCAA	eeeeeddddddddee	3	1359	1361	182
6	0	9	GGA	eee	9	9	8	8
65438	213	215	GCAGCACACTTAGACCA	eeeeeddddddddee	3	1360	1361	182
7	1	0	AGG	eee	9	0	9	9
65438	213	215	ATGCAGCACACTTAGAC	eeeeeddddddddee	2	1360	1362	183
8	3	2	CAA	eee	7	2	1	0
65438	213	215	CATGCAGCACACTTAGA	eeeeeddddddddee	2	1360	1362	183
9	4	3	CCA	eee	6	3	2	1
65439	213	215	TCCATGCAGCACACTTA	eeeeeddddddddee	2	1360	1362	183
0	6	5	GAC	eee	2	5	4	2
65439	213	215	CTCCATGCAGCACACTT	eeeeeddddddddee	4	1360	1362	183
1	7	6	AGA	eee	8	6	5	3
65439	213	215	CACTCCATGCAGCACAC	eeeeeddddddddee	6	1360	1362	183
2	9	8	TTA	eee	0	8	7	4
65439	214	215	TCACTCCATGCAGCACA	eeeeeddddddddee	4	1360	1362	183
3	0	9	CTT	eee	5	9	8	5
65439	214	216	GCTCACTCCATGCAGCA	eeeeeddddddddee	7	1361	1363	183
4	2	1	CAC	eee	2	1	0	6
65439	216	217	CCGCTGCAGGCTTCTAC	eeeeeddddddddee	3	1362	1364	183
5	0	9	TGC	eee	4	9	8	7
65439	216	218	GCCGCTGCAGGCTTCTA	eeeeeddddddddee	3	1363	1364	183
6	1	0	CTG	eee	2	0	9	8
65439	216	218	GTGCCGCTGCAGGCTTC	eeeeeddddddddee	3	1363	1365	183
7	3	2	TAC	eee	8	2	1	9
65439	216	218	TGTGCCGCTGCAGGCTT	eeeeeddddddddee	1	1363	1365	184
8	4	3	CTA	eee	7	3	2	0
65439	216	218	TTTGTGCCGCTGCAGGC	eeeeeddddddddee	1	1363	1365	184
9	6	5	TTC	eee	6	5	4	1
65440	216	218	ATTTGTGCCGCTGCAGG	eeeeeddddddddee	2	1363	1365	184
0	7	6	CTT	eee	7	6	5	2
65440	216	218	GCATTTGTGCCGCTGCA	eeeeeddddddddee	7	1363	1365	184
1	9	8	GGC	eee	5	8	7	3

【 0 5 4 4 】

【表 1 3 - 4】

65440	217	218	TGCATTTGTGCCGCTGC	eeeeeddddddddeee	6	1363	1365	184
2	0	9	AGG	eee	4	9	8	4
65440	217	219	GGTGCATTTGTGCCGCT	eeeeeddddddddeee	6	1364	1366	184
3	2	1	GCA	eee	4	1	0	5
65440	217	219	AGGTGCATTTGTGCCGC	eeeeeddddddddeee	6	1364	1366	184
4	3	2	TGC	eee	8	2	1	6
65440	217	219	GGAGGTGCATTTGTGCC	eeeeeddddddddeee	4	1364	1366	184
5	5	4	GCT	eee	2	4	3	7
65440	217	219	GGGAGGTGCATTTGTGC	eeeeeddddddddeee	3	1364	1366	184
6	6	5	CGC	eee	6	5	4	8
65440	217	219	CTGGGAGGTGCATTTGT	eeeeeddddddddeee	2	1364	1366	184
7	8	7	GCC	eee	6	7	6	9
65440	217	219	ACTGGGAGGTGCATTTG	eeeeeddddddddeee	1	1364	1366	185
8	9	8	TGC	eee	0	8	7	0
65440	218	220	AAACTGGGAGGTGCATT	eeeeeddddddddeee	1	1365	1366	185
9	1	0	TGT	eee	5	0	9	1
65441	218	220	CAAACCTGGGAGGTGCAT	eeeeeddddddddeee	7	1365	1367	185
0	2	1	TTG	eee	7	1	0	2
65441	218	220	AGCAAACCTGGGAGGTGC	eeeeeddddddddeee	3	1365	1367	185
1	4	3	ATT	eee	4	3	2	3
65441	218	220	CAGCAAACCTGGGAGGTG	eeeeeddddddddeee	3	1365	1367	185
2	5	4	CAT	eee	3	4	3	4
65441	218	220	CCCAGCAAACCTGGGAGG	eeeeeddddddddeee	5	1365	1367	185
3	7	6	TGC	eee	7	6	5	5
65441	218	220	ACCCAGCAAACCTGGGAG	eeeeeddddddddeee	5	1365	1367	185
4	8	7	GTG	eee	3	7	6	6
65441	219	221	AATAAACCCAGCAAACCT	eeeeeddddddddeee	1	1366	1368	185
5	3	2	GGG	eee	7	2	1	7
65441	219	221	AAATAAACCCAGCAAAC	eeeeeddddddddeee	2	1366	1368	185
6	4	3	TGG	eee	0	3	2	8
65441	219	221	TAAATAAACCCAGCAA	eeeeeddddddddeee	1	1366	1368	185
7	6	5	ACT	eee	3	5	4	9
65441	219	221	CTAAATAAACCCAGCA	eeeeeddddddddeee	2	1366	1368	186
8	7	6	AAC	eee	2	6	5	0
65441	219	221	CTCTAAATAAACCCAG	eeeeeddddddddeee	1	1366	1368	186
9	9	8	CAA	eee	2	8	7	1
65442	220	221	TCTCTAAATAAACCCA	eeeeeddddddddeee	4	1366	1368	186
0	0	9	GCA	eee	7	9	8	2
65442	220	222	ATTCTCTAAATAAAC	eeeeeddddddddeee	2	1367	1369	186
1	2	1	CAG	eee	3	1	0	3
65442	220	222	CATTCTCTAAATAAAC	eeeeeddddddddeee	2	1367	1369	186
2	3	2	CCA	eee	2	2	1	4

【 0 5 4 5 】

10

20

30

40

【表 1 3 - 5】

65442 3	220 5	222 4	CCCATTCTCTAAAATA ACC	eeeeeddddddddeee eee	1 2	1367 4	1369 3	186 5
65442 4	220 6	222 5	CCCCATTCTCTAAAATA AAC	eeeeeddddddddeee eee	2 0	1367 5	1369 4	186 6
65442 5	220 8	222 7	ACCCCATTTCTCTAAAA TAA	eeeeeddddddddeee eee	2 1	1367 7	1369 6	186 7
65442 6	220 9	222 8	CACCCCATTTCTCTAAA ATA	eeeeeddddddddeee eee	3 2	1367 8	1369 7	186 8
65442 7	221 1	223 0	CCCACCCCATTTCTCTA AAA	eeeeeddddddddeee eee	1 8	1368 0	1369 9	186 9

10

【0 5 4 6】

表 1 3 は、2 0, 0 0 0 細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して4 0 0 0 nMのアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトしたH e p G 2 細胞中でのA G T m R N A 阻害を示す。約 2 4 時間の処置期間後、R N A を細胞から単離し、A G T m R N A レベルを定量リアルタイム P C R によって測定した。ヒトプライマープローブセット R T S 3 7 2 1 を使用してm R N A レベルを測定した。R I B O G R E E N (登録商標)によって測定した全R N A 含量に従ってA G T m R N A レベルを調整した。無処置の対照細胞に対するA G T の阻害率(%)として結果を示す。

20

【0 5 4 7】

【表 1 4 - 1】

表 1 3

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする M O E 及び／または c E t 含有ギャップマーによる A G T m R N A 阻害

ISIS 番号	配列番号 1 開始部位	配列番号 1 終止部位	配列	化学的構造	阻害率 (%)	配列番号 2 開始部位	配列番号 2: 終止部位	配列番号
56863 7	204 6	206 1	CGCTGATTTGTCCGGG	eekdddddddddkke	9 5	1351 5	1353 0	129
56863 7	204 6	206 1	CGCTGATTTGTCCGGG	eekdddddddddkke	9 8	1351 5	1353 0	129
61001 2	204 6	206 5	ACATCGCTGATTTGTCC GGG	eeeeedddddddddee eee	7 4	1351 5	1353 4	236
61001 3	204 7	206 6	CACATCGCTGATTTGTC CGG	eeeeedddddddddee eee	7 6	1351 6	1353 5	237
61001 4	204 8	206 7	ACACATCGCTGATTTGT CCG	eeeeedddddddddee eee	8 5	1351 7	1353 6	238
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeedddddddddee eee	8 5	1351 8	1353 7	239
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeedddddddddee eee	3	1351 8	1353 7	239
61001 5	204 9	206 8	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeedddddddddee eee	1 7	1351 8	1353 7	239
61004 3	209 6	211 5	CCAGCTCAAAGTCGACT CAT	eeeeedddddddddee eee	8 7	1356 5	1358 4	267
61999 8	226 7	228 6	TCGGTTGGAATTCITTT TGG	eeeeedddddddddee eee	8 0	1373 6	1375 5	1714
62000 0	227 3	229 2	AGCTGGTCGGTTGGAAT TCT	eeeeedddddddddee eee	6 9	1374 2	1376 1	1716

【 0 5 4 8 】

【表 1 4 - 2】

65442	221	223	CCCCACCCCATTTCTCT	eeeeeddddddddeee	4	1368	1370	
8	2	1	AAA	eee	9	1	0	1870
65442	221	223	CTCCCCACCCCATTTCT	eeeeeddddddddeee	5	1368	1370	
9	4	3	CTA	eee	8	3	2	1871
65443	221	223	TGCCTCCCCACCCCAT	eeeeeddddddddeee	6	1368	1370	
0	7	6	TCT	eee	1	6	5	1872
65443	221	223	TTGCCTCCCCACCCCA	eeeeeddddddddeee	5	1368	1370	
1	8	7	TTC	eee	1	7	6	1873
65443	222	223	TCTTGCCTCCCCACCCC	eeeeeddddddddeee	6	1368	1370	
2	0	9	CAT	eee	7	9	8	1874
65443	222	224	GGTTCTTGCCTCCCCAC	eeeeeddddddddeee	8	1369	1371	
3	3	2	CCC	eee	4	2	1	1875
65443	222	224	TGGTTCTTGCCTCCCCA	eeeeeddddddddeee	8	1369	1371	
4	4	3	CCC	eee	3	3	2	1876
65443	222	224	ACTGGTTCTTGCCTCCC	eeeeeddddddddeee	7	1369	1371	
5	6	5	CAC	eee	5	5	4	1877
65443	222	224	CACTGGTTCTTGCCTCC	eeeeeddddddddeee	8	1369	1371	
6	7	6	CCA	eee	4	6	5	1878
65443	222	224	AACACTGGTTCTTGCCT	eeeeeddddddddeee	7	1369	1371	
7	9	8	CCC	eee	6	8	7	1879
65443	223	224	AAACACTGGTTCTTGCC	eeeeeddddddddeee	7	1369	1371	
8	0	9	TCC	eee	5	9	8	1880
65443	223	225	CTAAACACTGGTTCTTG	eeeeeddddddddeee	7	1370	1372	
9	2	1	CCT	eee	0	1	0	1881
65444	223	225	GCTAAACACTGGTTCTT	eeeeeddddddddeee	7	1370	1372	
0	3	2	GCC	eee	9	2	1	1882
65444	223	225	GCGCTAAACACTGGTTC	eeeeeddddddddeee	7	1370	1372	
1	5	4	TTG	eee	9	4	3	1883
65444	223	225	CGCGCTAAACACTGGTT	eeeeeddddddddeee	8	1370	1372	
2	6	5	CTT	eee	1	5	4	1884
65444	223	225	CCCGCGCTAAACACTGG	eeeeeddddddddeee	8	1370	1372	
3	8	7	TTC	eee	0	7	6	1885
65444	223	225	TCCCGCGCTAAACACTG	eeeeeddddddddeee	8	1370	1372	
4	9	8	GTT	eee	9	8	7	1886
65444	224	226	AGTCCCGCGCTAAACAC	eeeeeddddddddeee	7	1371	1372	
5	1	0	TGG	eee	5	0	9	1887
65444	224	226	TAGTCCCGCGCTAAACA	eeeeeddddddddeee	7	1371	1373	
6	2	1	CTG	eee	3	1	0	1888
65444	224	226	AGTAGTCCCGCGCTAAA	eeeeeddddddddeee	5	1371	1373	
7	4	3	CAC	eee	9	3	2	1889
65444	224	226	CAGTAGTCCCGCGCTAA	eeeeeddddddddeee	6	1371	1373	
8	5	4	ACA	eee	7	4	3	1890

【 0 5 4 9 】

10

20

30

40

【表 1 4 - 3】

65444	224	226	AACAGTAGTCCCGCGCT	eeeeeddddddddeee	6	1371	1373	
9	7	6	AAA	eee	0	6	5	1891
65445	224	226	GAACAGTAGTCCCGCGC	eeeeeddddddddeee	6	1371	1373	
0	8	7	TAA	eee	9	7	6	1892
65445	225	226	TGGAACAGTAGTCCCGC	eeeeeddddddddeee	8	1371	1373	
1	0	9	GCT	eee	7	9	8	1893
65445	225	227	TTGGAACAGTAGTCCCG	eeeeeddddddddeee	8	1372	1373	
2	1	0	CGC	eee	7	0	9	1894
65445	225	227	TTTTGGAACAGTAGTCC	eeeeeddddddddeee	7	1372	1374	
3	3	2	CGC	eee	3	2	1	1895
65445	225	227	TTTTTGAACAGTAGTC	eeeeeddddddddeee	5	1372	1374	
4	4	3	CCG	eee	1	3	2	1896
65445	225	227	TCTTTTGAACAGTAG	eeeeeddddddddeee	7	1372	1374	
5	6	5	TCC	eee	4	5	4	1897
65445	225	227	TTCTTTTGAACAGTA	eeeeeddddddddeee	6	1372	1374	
6	7	6	GTC	eee	6	6	5	1898
65445	225	227	AATTCTTTTGAACAG	eeeeeddddddddeee	4	1372	1374	
7	9	8	TAG	eee	6	8	7	1899
65445	226	227	GAATTCTTTTGAACA	eeeeeddddddddeee	7	1372	1374	
8	0	9	GTA	eee	4	9	8	1900
65445	226	228	TGGAATTCTTTTGGAA	eeeeeddddddddeee	4	1373	1375	
9	2	1	CAG	eee	1	1	0	1901
65446	226	228	TTGGAATTCTTTTGA	eeeeeddddddddeee	3	1373	1375	
0	3	2	ACA	eee	4	2	1	1902
65446	226	228	GGTTGGAATTCTTTTG	eeeeeddddddddeee	5	1373	1375	
1	5	4	GAA	eee	8	4	3	1903
65446	226	228	CGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeddddddddeee	7	1373	1375	
2	6	5	GGA	eee	7	5	4	1904
65446	226	228	GTCGGTTGGAATTCTTT	eeeeeddddddddeee	7	1373	1375	
3	8	7	TTG	eee	4	7	6	1905
65446	226	228	GGTCGGTTGGAATTCTT	eeeeeddddddddeee	8	1373	1375	
4	9	8	TTT	eee	1	8	7	1906
65446	227	229	CTGGTCGGTTGGAATTC	eeeeeddddddddeee	7	1374	1375	
5	1	0	TTT	eee	8	0	9	1907
65446	227	229	GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeeeddddddddeee	8	1374	1376	
6	2	1	CTT	eee	1	1	0	1908
65446	227	229	AAGCTGGTCGGTTGGAA	eeeeeddddddddeee	6	1374	1376	
7	4	3	TTC	eee	1	3	2	1909
65446	227	229	CAAGCTGGTCGGTTGGA	eeeeeddddddddeee	6	1374	1376	
8	5	4	ATT	eee	2	4	3	1910
65446	227	229	AACAAGCTGGTCGGTTG	eeeeeddddddddeee	7	1374	1376	
9	7	6	GAA	eee	0	6	5	1911

【0 5 5 0】

10

20

30

40

【表 1 4 - 4】

65447 0	227 8	229 7	AAACAAGCTGGTCGGTT GGA	eeeeeddddddddee eee	6 2	1374 7	1376 6	1912
65447 1	228 0	229 9	ACAAACAAGCTGGTCGG TTG	eeeeeddddddddee eee	6 2	1374 9	1376 8	1913
65447 2	228 1	230 0	CACAAACAAGCTGGTCG GTT	eeeeeddddddddee eee	8 8	1375 0	1376 9	1914
65447 3	228 3	230 2	TTCACAAACAAGCTGGT CGG	eeeeeddddddddee eee	7 6	1375 2	1377 1	1915
65447 4	228 4	230 3	TTTCACAAACAAGCTGG TCG	eeeeeddddddddee eee	7 7	1375 3	1377 2	1916
65447 5	228 6	230 5	TGTTTCACAAACAAGCT GGT	eeeeeddddddddee eee	8 0	1375 5	1377 4	1917
65447 6	228 7	230 6	TTGTTTCACAAACAAGC TGG	eeeeeddddddddee eee	8 3	1375 6	1377 5	1918
65447 7	228 9	230 8	TTTTGTTTCACAAACAA GCT	eeeeeddddddddee eee	6 6	1375 8	1377 7	1919
65447 8	229 0	230 9	TTTTGTTTCACAAACA AGC	eeeeeddddddddee eee	7 0	1375 9	1377 8	1920
65447 9	230 9	232 8	AACTTGAAAAGGGAACA CTT	eeeeeddddddddee eee	6 9	1377 8	1379 7	1921
65448 0	231 1	233 0	TCAACTTGAAAAGGGAA CAC	eeeeeddddddddee eee	8 4	1378 0	1379 9	1922
65448 1	231 2	233 1	CTCAACTTGAAAAGGGA ACA	eeeeeddddddddee eee	9 0	1378 1	1380 0	1923
65448 2	231 4	233 3	TTCTCAACTTGAAAAGG GAA	eeeeeddddddddee eee	6 7	1378 3	1380 2	1924
65448 3	231 5	233 4	GTTCTCAACTTGAAAAG GGA	eeeeeddddddddee eee	9 2	1378 4	1380 3	1925
65448 4	231 7	233 6	TTGTTCTCAACTTGAAA AGG	eeeeeddddddddee eee	8 2	1378 6	1380 5	1926
65448 5	231 8	233 7	TTGTTCTCAACTTGAA AAG	eeeeeddddddddee eee	6 1	1378 7	1380 6	1927
65448 6	232 0	233 9	TTTTGTTCTCAACTTG AAA	eeeeeddddddddee eee	3 5	1378 9	1380 8	1928
65448 7	232 1	234 0	ATTTTGTCTCAACTT GAA	eeeeeddddddddee eee	4 4	1379 0	1380 9	1929
65448 8	232 3	234 2	CAATTTTGTCTCAAC TTG	eeeeeddddddddee eee	5 4	1379 2	1381 1	1930
65448 9	232 4	234 3	CCAATTTTGTCTCAA CTT	eeeeeddddddddee eee	7 9	1379 3	1381 2	1931
65449 0	232 6	234 5	ACCCAATTTTGTCTC AAC	eeeeeddddddddee eee	8 5	1379 5	1381 4	1932

【表 1 4 - 5】

65449	232	234	AACCCAATTTTGTCT	eeeeeeeeeeeeee	8	1379	1381	
1	7	6	CAA	eee	2	6	5	1933
65449	233	234	TAAAACCAATTTTGT	eeeeeeeeeeeeee	5	1379	1381	
2	0	9	TCT	eee	2	9	8	1934
65449	233	235	TTTAAACCAATTTT	eeeeeeeeeeeeee	1	1380	1382	
3	2	1	GTT	eee	3	1	0	1935
65449	235	237	AATGCAAAATGTATAC	eeeeeeeeeeeeee	5	1382	1384	
4	5	4	TTT	eee	3	4	3	1936
65449	235	237	GCAATGCAAAATGTAT	eeeeeeeeeeeeee	7	1382	1384	
5	7	6	ACT	eee	3	6	5	1937
65449	236	237	AAGGCAATGCAAAATG	eeeeeeeeeeeeee	5	1382	1384	
6	0	9	TAT	eee	6	9	8	1938
65449	236	238	GAAGGCAATGCAAAAT	eeeeeeeeeeeeee	7	1383	1384	
7	1	0	GTA	eee	0	0	9	1939
65449	236	238	CCGAAGGCAATGCAAAA	eeeeeeeeeeeeee	6	1383	1385	
8	3	2	ATG	eee	0	2	1	1940
65452					4			
1	495	511	CATACCCTTCTGCTGTA	eeedeeeeeeeeee	6	N/A	N/A	1941
65452					4			
2	498	514	CCGCATACCCTTCTGCT	eeedeeeeeeeeee	4	N/A	N/A	1942
65452					6			
3	504	520	TCGCTCCGCATACCCT	eeedeeeeeeeeee	9	5721	5737	1943
65452					5			
4	507	523	TGCTCGCTTCCGCATAC	eeedeeeeeeeeee	8	5724	5740	1944
65452					5			
5	636	652	CTCATTGTGGATGACGA	eeedeeeeeeeeee	3	5853	5869	1945
65452					4			
6	639	655	ACTCTCATTGTGGATGA	eeedeeeeeeeeee	8	5856	5872	1946
65452					4			
7	654	670	CAGCTGCTCACAGGTAC	eeedeeeeeeeeee	7	5871	5887	1947
65452					5			
8	768	784	AGCGACTAGCACCAGCT	eeedeeeeeeeeee	6	5985	6001	1948
65452	126	128			4			
9	6	2	CACAGCCTGCATGAACC	eeedeeeeeeeeee	8	6483	6499	1949
65453	127	128			6			
0	2	8	TCCTGTACAGCCTGCA	eeedeeeeeeeeee	8	6489	6505	1950
65453	127	129			6			
1	5	1	CCATCCTGTACAGCCT	eeedeeeeeeeeee	5	6492	6508	1951
65453	145	147			4	1046	1048	
2	6	2	AGTGCTGGAAGGTGCCC	eeedeeeeeeeeee	1	7	3	1952
65453	153	154			6	1054	1055	
3	1	7	GCTGGATCAGCAGCAGG	eeedeeeeeeeeee	1	2	8	1953

【 0 5 5 2 】

10

20

30

40

【表 1 4 - 6】

65453 4	175 1	176 7	CTGATGCGGTCATTGCT	eeeddddddddddeeee	5 2	1235 7	1237 3	1954
65453 5	180 8	182 4	GGCTCTCTCTCATCCGC	eeeddddddddddeeee	7 4	1327 7	1329 3	1955
65453 6	181 1	182 7	GTGGGCTCTCTCTCATC	eeeddddddddddeeee	6 0	1328 0	1329 6	1956
65453 7	198 3	199 9	CCTTGCCAGGCACTGTG	eeeddddddddddeeee	6 9	1345 2	1346 8	1957
65453 8	198 4	200 0	GCCTTGCCAGGCACTGT	eeeddddddddddeeee	7 7	1345 3	1346 9	1958
65453 9	198 6	200 2	AGGCCTTGCCAGGCACT	eeeddddddddddeeee	7 8	1345 5	1347 1	1959
65454 0	198 7	200 3	GAGGCCTTGCCAGGCAC	eeeddddddddddeeee	4 4	1345 6	1347 2	1960
65454 1	201 9	203 5	GCTGCTGGCCTTTGCCT	eeeddddddddddeeee	5 4	1348 8	1350 4	1961
65454 2	202 4	204 0	TATCTGCTGCTGGCCTT	eeeddddddddddeeee	5 9	1349 3	1350 9	1962
65454 3	202 5	204 1	TTATCTGCTGCTGGCCT	eeeddddddddddeeee	4 4	1349 4	1351 0	1963
65454 4	202 7	204 3	TGTTATCTGCTGCTGGC	eeeddddddddddeeee	6 7	1349 6	1351 2	1964
65454 5	202 8	204 4	TTGTTATCTGCTGCTGG	eeeddddddddddeeee	5 6	1349 7	1351 3	1965
65454 6	202 9	204 5	GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeddddddddddeeee	7 7	1349 8	1351 4	1966
65454 7	204 7	206 3	ATCGCTGATTTGTCCGG	eeeddddddddddeeee	8 0	1351 6	1353 2	1967
65454 8	204 8	206 4	CATCGCTGATTTGTCCG	eeeddddddddddeeee	5 9	1351 7	1353 3	1968
65454 9	204 9	206 5	ACATCGCTGATTTGTCC	eeeddddddddddeeee	6 5	1351 8	1353 4	1969
65455 0	205 0	206 6	CACATCGCTGATTTGTC	eeeddddddddddeeee	8 1	1351 9	1353 5	1970
65455 1	205 1	206 7	ACACATCGCTGATTTGT	eeeddddddddddeeee	7 4	1352 0	1353 6	1971
65455 2	205 3	206 9	TGACACATCGCTGATTT	eeeddddddddddeeee	5 3	1352 2	1353 8	1972
65455 3	205 4	207 0	GTGACACATCGCTGATT	eeeddddddddddeeee	7 4	1352 3	1353 9	1973
65455 4	208 2	209 8	CATTAGAAGAAAAGGTG	eeeddddddddddeeee	1 8	1355 1	1356 7	1974

【 0 5 5 3】

10

20

30

40

【表 1 4 - 7】

65455	208	209			2	1355	1356	
5	3	9	TCATTAGAAGAAAAGGT	eeeddddddddddeeee	3	2	8	1975
65455	208	210			5	1355	1357	
6	7	3	CGACTCATTAGAAGAAA	eeeddddddddddeeee	1	6	2	1976
65455	209	211			7	1356	1358	
7	6	2	GCTCAAAGTCGACTCAT	eeeddddddddddeeee	0	5	1	1977
65455	209	211			8	1356	1358	
8	7	3	AGCTCAAAGTCGACTCA	eeeddddddddddeeee	2	6	2	1978
65455	209	211			8	1356	1358	
9	8	4	CAGCTCAAAGTCGACTC	eeeddddddddddeeee	8	7	3	1979
65456	209	211			8	1356	1358	
0	9	5	CCAGCTCAAAGTCGACT	eeeddddddddddeeee	4	8	4	1980
65456	210	211			8	1356	1358	
1	0	6	TCCAGCTCAAAGTCGAC	eeeddddddddddeeee	1	9	5	1981
65456	210	211			5	1357	1358	
2	3	9	CTTTCCAGCTCAAAGTC	eeeddddddddddeeee	3	2	8	1982
65456	211	213			5	1358	1359	
3	4	0	AGAAACGGCTGCTTTCC	eeeddddddddddeeee	4	3	9	1983
65456	212	213			6	1359	1360	
4	1	7	ACCAAGGAGAAACGGCT	eeeddddddddddeeee	6	0	6	1984
65456	217	218			8	1364	1365	
5	2	8	GCATTTGTGCCGCTGCA	eeeddddddddddeeee	2	1	7	1985
65456	217	219			8	1364	1366	
6	5	1	GGTGCATTTGTGCCGCT	eeeddddddddddeeee	5	4	0	1986
65456	218	220			7	1365	1367	
7	7	3	AGCAAACCTGGGAGGTGC	eeeddddddddddeeee	0	6	2	1987
65456	222	224			8	1369	1371	
8	6	2	GGTTCTTGCCCTCCCCAC	eeeddddddddddeeee	8	5	1	1988
65456	223	225			6	1370	1372	
9	5	1	CTAAACACTGGTTCTTG	eeeddddddddddeeee	4	4	0	1989
65457	223	225			8	1370	1372	
0	8	4	GCGCTAAACACTGGTTC	eeeddddddddddeeee	5	7	3	1990
65457	225	226			8	1371	1373	
1	0	6	AACAGTAGTCCCGCGCT	eeeddddddddddeeee	3	9	5	1991
65457	226	228			3	1373	1375	
2	8	4	GGTTGGAATTCTTTTG	eeeddddddddddeeee	8	7	3	1992
65457	227	229			6	1374	1375	
3	4	0	CTGGTCGGTTGGAATTC	eeeddddddddddeeee	7	3	9	1993
65457	228	229			7	1375	1376	
4	3	9	ACAAACAAGCTGGTCGG	eeeddddddddddeeee	0	2	8	1994
65457	228	230			6	1375	1377	
5	6	2	TTCACAAACAAGCTGGT	eeeddddddddddeeee	7	5	1	1995

【 0 5 5 4】

10

20

30

40

【表 1 4 - 8】

65457 6	231 1	232 7	ACTTGAAAAGGGAACAC	eeeddddddddddeeee	7 2	1378 0	1379 6	1996
65457 7	231 4	233 0	TCAACTTGAAAAGGGAA	eeeddddddddddeeee	2 9	1378 3	1379 9	1997
65457 8	231 7	233 3	TTCTCAACTTGAAAAGG	eeeddddddddddeeee	4 6	1378 6	1380 2	1998
65457 9	232 6	234 2	CAATTTTGTCTCAAC	eeeddddddddddeeee	1 1	1379 5	1381 1	1999
65458 0	232 9	234 5	ACCCAATTTTGTCTC	eeeddddddddddeeee	7 0	1379 8	1381 4	2000
65458 2	202 4	204 0	TATCTGCTGCTGGCCTT	eeeddddddddeeeeee	5 8	1349 3	1350 9	1962
65458 5	202 7	204 3	TGTTATCTGCTGCTGGC	eeeddddddddeeeeee	6 6	1349 6	1351 2	1964
65458 6	202 8	204 4	TTGTTATCTGCTGCTGG	eeeddddddddeeeeee	6 6	1349 7	1351 3	1965
65460 9	202 4	204 0	TATCTGCTGCTGGCCTT	eeeddddddddeeeeee	6 2	1349 3	1350 9	1962
65461 2	202 7	204 3	TGTTATCTGCTGCTGGC	eeeddddddddeeeeee	6 1	1349 6	1351 2	1964
65463 6	202 4	204 0	TATCTGCTGCTGGCCTT	eeeddddddddeeeeee	7 0	1349 3	1350 9	1962
65463 9	202 7	204 3	TGTTATCTGCTGCTGGC	eeeddddddddeeeeee	6 9	1349 6	1351 2	1964
65468 9	202 3	203 9	ATCTGCTGCTGGCCTTT	eeeddddddddeeeeee	6 0	1349 2	1350 8	2001
65469 0	202 6	204 2	GTTATCTGCTGCTGGCC	eeeddddddddeeeeee	7 7	1349 5	1351 1	2002
65469 1	204 6	206 2	TCGCTGATTTGTCCGGG	eeeddddddddeeeeee	9 0	1351 5	1353 1	2003
65469 2	224 9	226 5	ACAGTAGTCCCGCGCTA	eeeddddddddeeeeee	7 6	1371 8	1373 4	2004
65469 3	225 1	226 7	GAACAGTAGTCCCGCGC	eeeddddddddeeeeee	7 4	1372 0	1373 6	2005
65469 4	226 7	228 3	GTTGGAATTCTTTTGG	eeeddddddddeeeeee	4 1	1373 6	1375 2	2006
65469 5	226 9	228 5	CGGTTGGAATTCTTTT	eeeddddddddeeeeee	6 5	1373 8	1375 4	2007
65469 6	227 3	228 9	TGGTCGGTTGGAATTCT	eeeddddddddeeeeee	6 1	1374 2	1375 8	2008
65469 7	227 5	229 1	GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeddddddddeeeeee	6 1	1374 4	1376 0	2009

【 0 5 5 5】

10

20

30

40

【表 1 4 - 9】

65469 8	228 2	229 8	CAAACAAGCTGGTCGGT	eeeeeeeeeeeeeeee	8 4	1375 1	1376 7	2010
65469 9	228 4	230 0	CACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeeeeeeeeeeee	7 8	1375 3	1376 9	2011

【0 5 5 6】

表 1 4 は、2 0 , 0 0 0 細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して 4 0 0 0 n M のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした H e p G 2 細胞中での A G T m R N A 阻害を示す。約 2 4 時間の処置期間後、R N A を細胞から単離し、A G T m R N A レベルを定量リアルタイム P C R によって測定した。ヒトプライマープローブセット R T S 3 7 2 1 を使用して m R N A レベルを測定した。R I B O G R E E N (登録商標) によって測定した全 R N A 含量に従って A G T m R N A レベルを調整した。無処置の対照細胞に対する A G T の阻害率 (%) として結果を示す。

10

【0 5 5 7】

【表 15-1】

表 14

配列番号 1 及び／または 2 を標的にする MOE 及び／または c E t 含有ギャップマーによる A G T m R N A 阻害

ISIS 番号	配列 番号 1 開始部 位	配列 番号 1 終 止部 位	配列	化学的構造	阻 害 率 (%)	配列番 号 2 開始部 位	配列 番号 2: 終止部 位	配 列 番 号
56863 7	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekdddddddddkke	96	13515	1353 0	129
56863 7	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekdddddddddkke	98	13515	1353 0	129
56863 7	2046	2061	CGCTGATTTGTCCGGG	eeekdddddddddkke	97	13515	1353 0	129
61000 6	2023	2042	GTTATCTGCTGCTGGCC TTT	eeeeedddddddddddee eee	77	13492	1351 1	230
61000 9	2026	2045	GTTGTTATCTGCTGCTG GCC	eeeeedddddddddddee eee	73	13495	1351 4	233
61001 0	2027	2046	GGTTGTTATCTGCTGCT GGC	eeeeedddddddddddee eee	82	13496	1351 5	234
61001 2	2046	2065	ACATCGCTGATTTGTCC GGG	eeeeedddddddddddee eee	84	13515	1353 4	236
61001 3	2047	2066	CACATCGCTGATTTGTC CGG	eeeeedddddddddddee eee	76	13516	1353 5	237
61001 4	2048	2067	ACACATCGCTGATTGT CCG	eeeeedddddddddddee eee	89	13517	1353 6	238
61001 5	2049	2068	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeedddddddddddee eee	35	13518	1353 7	239
61001 5	2049	2068	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeedddddddddddee eee	28	13518	1353 7	239
61001 5	2049	2068	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeedddddddddddee eee	89	13518	1353 7	239
61001 5	2049	2068	GACACATCGCTGATTG TCC	eeeeedddddddddddee eee	22	13518	1353 7	239

【0558】

【表 1 5 - 2】

61004 3	2096	2115	CCAGCTCAAAGTCGACT CAT	eeeeeddddddddeee eee	82	13565	1358 4	267
61999 2	2249	2268	GGAACAGTAGTCCCGCG CTA	eeeeeddddddddeee eee	88	13718	1373 7	170 8
61999 8	2267	2286	TCGGTTGGAATTCTTTT TGG	eeeeeddddddddeee eee	69	13736	1375 5	171 4
62000 0	2273	2292	AGCTGGTCGGTTGGAAT TCT	eeeeeddddddddeee eee	76	13742	1376 1	171 6
62000 3	2282	2301	TCACAAACAAGCTGGTC GGT	eeeeeddddddddeee eee	85	13751	1377 0	171 9
65470 1	2024	2041	TTATCTGCTGCTGGCCT T	eeeeeddddddddeee e	50	13493	1351 0	201 2
65470 4	2027	2044	TTGTTATCTGCTGCTGG C	eeeeeddddddddeee e	46	13496	1351 3	201 3
65470 5	2028	2045	GTTGTTATCTGCTGCTG G	eeeeeddddddddeee e	60	13497	1351 4	201 4
65470 7	2046	2063	ATCGCTGATTGTCCGG G	eeeeeddddddddeee e	91	13515	1353 2	201 5
65470 8	2047	2064	CATCGCTGATTGTCCG G	eeeeeddddddddeee e	78	13516	1353 3	201 6
65470 9	2048	2065	ACATCGCTGATTGTCC G	eeeeeddddddddeee e	66	13517	1353 4	201 7
65471 0	2049	2066	CACATCGCTGATTGTG C	eeeeeddddddddeee e	80	13518	1353 5	201 8
65471 1	2050	2067	ACACATCGCTGATTGT C	eeeeeddddddddeee e	77	13519	1353 6	201 9
65471 3	2097	2114	CAGCTCAAAGTCGACTC A	eeeeeddddddddeee e	77	13566	1358 3	202 0
65471 6	2250	2267	GAACAGTAGTCCCGCGC T	eeeeeddddddddeee e	80	13719	1373 6	202 1
65471 9	2268	2285	CGGTTGGAATTCTTTTT G	eeeeeddddddddeee e	65	13737	1375 4	202 2
65472 2	2274	2291	GCTGGTCGGTTGGAATT C	eeeeeddddddddeee e	74	13743	1376 0	202 3
65472 4	2282	2299	ACAAACAAGCTGGTCGG T	eeeeeddddddddeee e	81	13751	1376 8	202 4
65472 5	2283	2300	CACAAACAAGCTGGTCG G	eeeeeddddddddeee e	80	13752	1376 9	202 5
65472 8	2024	2041	TTATCTGCTGCTGGCCT T	eeeeeddddddddeee e	53	13493	1351 0	201 2
65473 1	2027	2044	TTGTTATCTGCTGCTGG C	eeeeeddddddddeee e	56	13496	1351 3	201 3

【 0 5 5 9】

10

20

30

40

【表 15-3】

65473			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	201
2	2028	2045	G	e	71	13497	4	4
65473			CATCGCTGATTGTCCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	201
5	2047	2064	G	e	71	13516	3	6
65473			ACATCGCTGATTGTCC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	201
6	2048	2065	G	e	72	13517	4	7
65473			CACATCGCTGATTGTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	201
7	2049	2066	C	e	82	13518	5	8
65474			CAGCTCAAAGTCGACTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1358	202
0	2097	2114	A	e	88	13566	3	0
65474			GAACAGTAGTCCGCGC	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	202
3	2250	2267	T	e	75	13719	6	1
65474			GGTTGGAATTCTTTTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	202
5	2267	2284	G	e	49	13736	3	6
65474			CGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	202
6	2268	2285	G	e	62	13737	4	2
65474			GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	202
9	2274	2291	C	e	55	13743	0	3
65475			CACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	202
2	2283	2300	G	e	74	13752	9	5
65475			TTATCTGCTGCTGGCCT	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	201
5	2024	2041	T	e	47	13493	0	2
65475			TTGTTATCTGCTGCTGG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	201
8	2027	2044	C	e	51	13496	3	3
65475			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	201
9	2028	2045	G	e	56	13497	4	4
65476			ATCGCTGATTGTCCGG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	201
1	2046	2063	G	e	74	13515	2	5
65476			CATCGCTGATTGTCCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	201
2	2047	2064	G	e	62	13516	3	6
65476			ACATCGCTGATTGTCC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	201
3	2048	2065	G	e	61	13517	4	7
65476			CACATCGCTGATTGTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	201
4	2049	2066	C	e	68	13518	5	8
65476			ACACATCGCTGATTGT	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	201
5	2050	2067	C	e	72	13519	6	9
65476			CAGCTCAAAGTCGACTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1358	202
7	2097	2114	A	e	63	13566	3	0
65476			CCAGCTCAAAGTCGACT	eeeeeeeeeeeeeeee			1358	202
8	2098	2115	C	e	86	13567	4	7
65477			GAACAGTAGTCCGCGC	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	202
0	2250	2267	T	e	55	13719	6	1

【0560】

10

20

30

40

【表 1 5 - 4】

65477			GGAACAGTAGTCCCGCG	eeeeeddddddddeeee			1373	202
1	2251	2268	C	e	82	13720	7	8
65477			CGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeddddddddeeee			1375	202
3	2268	2285	G	e	58	13737	4	2
65477			GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeeeddddddddeeee			1376	202
6	2274	2291	C	e	37	13743	0	3
65477			ACAAACAAGCTGGTCGG	eeeeeddddddddeeee			1376	202
8	2282	2299	T	e	71	13751	8	4
65477			CACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeddddddddeeee			1376	202
9	2283	2300	G	e	63	13752	9	5
65478			TATCTGCTGCTGGCCTT	eeeeeddddddddeeee			1350	202
1	2023	2040	T	e	56	13492	9	9
65478			TTATCTGCTGCTGGCCT	eeeeeddddddddeeee			1351	201
2	2024	2041	T	e	63	13493	0	2
65478			TGTTATCTGCTGCTGGC	eeeeeddddddddeeee			1351	203
4	2026	2043	C	e	65	13495	2	0
65478			TTGTTATCTGCTGCTGG	eeeeeddddddddeeee			1351	201
5	2027	2044	C	e	55	13496	3	3
65478			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeddddddddeeee			1351	201
6	2028	2045	G	e	48	13497	4	4
65478			CATCGCTGATTGTCCG	eeeeeddddddddeeee			1353	201
9	2047	2064	G	e	73	13516	3	6
65479			ACATCGCTGATTGTCC	eeeeeddddddddeeee			1353	201
0	2048	2065	G	e	69	13517	4	7
65479			CACATCGCTGATTGTGTC	eeeeeddddddddeeee			1353	201
1	2049	2066	C	e	61	13518	5	8
65479			CAGCTCAAAGTCGACTC	eeeeeddddddddeeee			1358	202
4	2097	2114	A	e	79	13566	3	0
65479			GAACAGTAGTCCCGCGC	eeeeeddddddddeeee			1373	202
7	2250	2267	T	e	37	13719	6	1
65480			CGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeddddddddeeee			1375	202
0	2268	2285	G	e	63	13737	4	2
65480			TCGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeddddddddeeee			1375	203
1	2269	2286	T	e	59	13738	5	1
65480			GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeeeddddddddeeee			1376	202
3	2274	2291	C	e	61	13743	0	3
65480			CACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeddddddddeeee			1376	202
6	2283	2300	G	e	54	13752	9	5
65480			TTATCTGCTGCTGGCCT	eeeeeddddddddeeee			1351	203
9	2023	2041	TT	ee	45	13492	0	2
65481			TTGTTATCTGCTGCTGG	eeeeeddddddddeeee			1351	203
2	2026	2044	CC	ee	57	13495	3	3

【表 1 5 - 5】

65481			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
3	2027	2045	GC	ee	64	13496	4	4
65481			CATCGCTGATTGTCCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
5	2046	2064	GG	ee	83	13515	3	5
65481			ACATCGCTGATTGTCC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
6	2047	2065	GG	ee	68	13516	4	6
65481			CACATCGCTGATTGTGTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
7	2048	2066	CG	ee	82	13517	5	7
65481			ACACATCGCTGATTGTGTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
8	2049	2067	CC	ee	44	13518	6	8
65482			CAGCTCAAAGTCGACTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1358	203
0	2096	2114	AT	ee	80	13565	3	9
65482			AACAGTAGTCCCGCGCT	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	204
2	2248	2266	AA	ee	63	13717	5	0
65482			GAACAGTAGTCCCGCGC	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	204
3	2249	2267	TA	ee	77	13718	6	1
65482			CGGTTGGAATTCCTTTT	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	204
6	2267	2285	GG	ee	76	13736	4	2
65482			GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	204
9	2273	2291	CT	ee	78	13742	0	3
65483			CACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	204
2	2282	2300	GT	ee	82	13751	9	4
65483			TCACAAACAAGCTGGTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1377	204
3	2283	2301	GG	ee	28	13752	0	5
65483			TATCTGCTGCTGGCCTT	eeeeeeeeeeeeeeee			1350	204
4	2022	2040	TG	ee	3	13491	9	6
65483			TTATCTGCTGCTGGCCT	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
5	2023	2041	TT	ee	48	13492	0	2
65483			TGTTATCTGCTGCTGGC	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	204
7	2025	2043	CT	ee	64	13494	2	7
65483			TTGTTATCTGCTGCTGG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
8	2026	2044	CC	ee	38	13495	3	3
65483			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
9	2027	2045	GC	ee	60	13496	4	4
65484			CATCGCTGATTGTCCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
1	2046	2064	GG	ee	72	13515	3	5
65484			ACATCGCTGATTGTCC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
2	2047	2065	GG	ee	70	13516	4	6
65484			CACATCGCTGATTGTGTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
3	2048	2066	CG	ee	85	13517	5	7
65484			AGCTCAAAGTCGACTCA	eeeeeeeeeeeeeeee			1358	204
5	2095	2113	TT	ee	44	13564	2	8

【表 15-6】

65484			CAGCTCAAAGTCGACTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1358	203
6	2096	2114	AT	ee	84	13565	3	9
65484			GAACAGTAGTCCCGCGC	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	204
9	2249	2267	TA	ee	43	13718	6	1
65485			CGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	204
2	2267	2285	GG	ee	73	13736	4	2
65485			GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	204
5	2273	2291	CT	ee	59	13742	0	3
65485			CACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	204
8	2282	2300	GT	ee	72	13751	9	4
65486			TTATCTGCTGCTGGCCT	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
1	2023	2041	TT	ee	40	13492	0	2
65486			TTGTTATCTGCTGCTGG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
4	2026	2044	CC	ee	57	13495	3	3
65486			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
5	2027	2045	GC	ee	52	13496	4	4
65486			CATCGCTGATTGTCCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
7	2046	2064	GG	ee	71	13515	3	5
65486			ACATCGCTGATTGTCC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
8	2047	2065	GG	ee	69	13516	4	6
65486			CACATCGCTGATTGTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
9	2048	2066	CG	ee	69	13517	5	7
65487			CAGCTCAAAGTCGACTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1358	203
2	2096	2114	AT	ee	63	13565	3	9
65487			GAACAGTAGTCCCGCGC	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	204
5	2249	2267	TA	ee	55	13718	6	1
65487			GGTTGGAATTCTTTTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	204
7	2266	2284	GA	ee	43	13735	3	9
65487			CGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	204
8	2267	2285	GG	ee	61	13736	4	2
65488			GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	204
1	2273	2291	CT	ee	49	13742	0	3
65488			ACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	205
3	2281	2299	TT	ee	40	13750	8	0
65488			CACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	204
4	2282	2300	GT	ee	73	13751	9	4
65488			TTATCTGCTGCTGGCCT	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
7	2023	2041	TT	ee	60	13492	0	2
65489			TTGTTATCTGCTGCTGG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
0	2026	2044	CC	ee	44	13495	3	3
65489			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
1	2027	2045	GC	ee	60	13496	4	4

【0563】

10

20

30

40

【表 15-7】

65489			CATCGCTGATTTGTCCG	eeeeeeeddddddddeee			1353	203
3	2046	2064	GG	ee	74	13515	3	5
65489			ACATCGCTGATTTGTCC	eeeeeeeddddddddeee			1353	203
4	2047	2065	GG	ee	64	13516	4	6
65489			CACATCGCTGATTTGTGTC	eeeeeeeddddddddeee			1353	203
5	2048	2066	CG	ee	62	13517	5	7
65489			CAGCTCAAAGTCGACTC	eeeeeeeddddddddeee			1358	203
8	2096	2114	AT	ee	67	13565	3	9
65489			CCAGCTCAAAGTCGACT	eeeeeeeddddddddeee			1358	205
9	2097	2115	CA	ee	63	13566	4	1
65490			GAACAGTAGTCCCGCGC	eeeeeeeddddddddeee			1373	204
1	2249	2267	TA	ee	55	13718	6	1
65490			CGGTTGGAATTCTTTTT	eeeeeeeddddddddeee			1375	204
4	2267	2285	GG	ee	45	13736	4	2
65490			GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeeeeeddddddddeee			1376	204
7	2273	2291	CT	ee	51	13742	0	3
65491			CACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeeeddddddddeee			1376	204
0	2282	2300	GT	ee	47	13751	9	4
65491			TCACAAACAAGCTGGTC	eeeeeeeddddddddeee			1377	204
1	2283	2301	GG	ee	72	13752	0	5
65491			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeddddddddee			1351	203
7	2027	2045	GC	ee	45	13496	4	4
65492			ACATCGCTGATTTGTCC	eeeeeeeddddddddee			1353	203
0	2047	2065	GG	ee	77	13516	4	6
65493			GTTATCTGCTGCTGGCC	eeeeeeeddddddddee			1351	230
9	2023	2042	TTT	eee	65	13492	1	
65494			TTGTTATCTGCTGCTGG	eeeeeeeddddddddee			1351	232
1	2025	2044	CCT	eee	55	13494	3	
65494			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeddddddddee			1351	233
2	2026	2045	GCC	eee	48	13495	4	
65494			GTTGTTATCTGCTGCT	eeeeeeeddddddddee			1351	234
3	2027	2046	GGC	eee	67	13496	5	
65494			GGGTTGTTATCTGCTGC	eeeeeeeddddddddee			1351	235
4	2028	2047	TGG	eee	56	13497	6	
65494			ACATCGCTGATTTGTCC	eeeeeeeddddddddee			1353	236
5	2046	2065	GGG	eee	77	13515	4	
65494			CACATCGCTGATTTGTGTC	eeeeeeeddddddddee			1353	237
6	2047	2066	CGG	eee	67	13516	5	
65494			ACACATCGCTGATTTGT	eeeeeeeddddddddee			1353	238
7	2048	2067	CCG	eee	56	13517	6	
65495			CCAGCTCAAAGTCGACT	eeeeeeeddddddddee			1358	267
0	2096	2115	CAT	eee	75	13565	4	

【0564】

10

20

30

40

【表 15-8】

65495			TCCAGCTCAAAGTCGAC	eeeeeeeeeeeeeeee			1358	
1	2097	2116	TCA	eee	50	13566	5	268
65495			GAACAGTAGTCCCGCGC	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	189
2	2248	2267	TAA	eee	53	13717	6	2
65495			GGAACAGTAGTCCCGCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	170
3	2249	2268	CTA	eee	44	13718	7	8
65495			CGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	190
5	2266	2285	GGA	eee	58	13735	4	4
65495			TCGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	171
6	2267	2286	TGG	eee	66	13736	5	4
65495			AGCTGGTCGGTTGGAAT	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	171
9	2273	2292	TCT	eee	56	13742	1	6
65496			TCACAAACAAGCTGGTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1377	171
2	2282	2301	GGT	eee	55	13751	0	9
65496			TTCACAAACAAGCTGGT	eeeeeeeeeeeeeeee			1377	191
3	2283	2302	CGG	eee	63	13752	1	5
65496			TTATCTGCTGCTGGCCT	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	229
4	2022	2041	TTG	eee	43	13491	0	
65496			GTTATCTGCTGCTGGCC	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	230
5	2023	2042	TTT	eee	65	13492	1	
65496			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	233
8	2026	2045	GCC	eee	44	13495	4	
65496			GGTTGTTATCTGCTGCT	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	234
9	2027	2046	GGC	eee	64	13496	5	
65497			GGGTTGTTATCTGCTGC	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	235
0	2028	2047	TGG	eee	76	13497	6	
65497			ACATCGCTGATTTGTCC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	236
1	2046	2065	GGG	eee	60	13515	4	
65497			CACATCGCTGATTTGTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	237
2	2047	2066	CGG	eee	74	13516	5	
65497			ACACATCGCTGATTTGT	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	238
3	2048	2067	CCG	eee	54	13517	6	
65497			GACACATCGCTGATTTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	239
4	2049	2068	TCC	eee	78	13518	7	
65497			CCAGCTCAAAGTCGACT	eeeeeeeeeeeeeeee			1358	267
6	2096	2115	CAT	eee	62	13565	4	
65497			GGAACAGTAGTCCCGCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	170
9	2249	2268	CTA	eee	59	13718	7	8
65498			TCGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	171
2	2267	2286	TGG	eee	63	13736	5	4
65498			AGCTGGTCGGTTGGAAT	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	171
5	2273	2292	TCT	eee	57	13742	1	6

【0565】

10

20

30

40

【表 15-9】

65498 8	2282	2301	TCACAAACAAGCTGGTC GGT	eeeeeddddddddeeee eee	70	13751	1377 0	171 9
65498 9	2283	2302	TTCACAAACAAGCTGGT CGG	eeeeeddddddddeeee eee	77	13752	1377 1	191 5
65499 0	2022	2041	TTATCTGCTGCTGGCCT TTG	eeeeeddddddddeeee eee	41	13491	1351 0	229
65499 1	2023	2042	GTTATCTGCTGCTGGCC TTT	eeeeeddddddddeeee eee	70	13492	1351 1	230
65499 4	2026	2045	GTTGTTATCTGCTGCTG GCC	eeeeeddddddddeeee eee	33	13495	1351 4	233
65499 5	2027	2046	GGTTGTTATCTGCTGCT GGC	eeeeeddddddddeeee eee	79	13496	1351 5	234
65499 7	2046	2065	ACATCGCTGATTGTCC GGG	eeeeeddddddddeeee eee	64	13515	1353 4	236
65499 8	2047	2066	CACATCGCTGATTGTCT CGG	eeeeeddddddddeeee eee	70	13516	1353 5	237
65499 9	2048	2067	ACACATCGCTGATTGTG CCG	eeeeeddddddddeeee eee	85	13517	1353 6	238
65500 2	2096	2115	CCAGCTCAAAGTCGACT CAT	eeeeeddddddddeeee eee	85	13565	1358 4	267
65500 5	2249	2268	GGAACAGTAGTCCCGCG CTA	eeeeeddddddddeeee eee	73	13718	1373 7	170 8
65500 8	2267	2286	TCGGTTGGAATTCTTTT TGG	eeeeeddddddddeeee eee	67	13736	1375 5	171 4
65501 1	2273	2292	AGCTGGTTCGGTTGGAAT TCT	eeeeeddddddddeeee eee	31	13742	1376 1	171 6
65501 4	2282	2301	TCACAAACAAGCTGGTC GGT	eeeeeddddddddeeee eee	76	13751	1377 0	171 9
65504 4	2024	2041	TTATCTGCTGCTGGCCT T	eeeeeddddddddeeee e	55	13493	1351 0	201 2
65504 5	2027	2044	TTGTTATCTGCTGCTGG C	eeeeeddddddddeeee e	46	13496	1351 3	201 3
65504 6	2028	2045	GTTGTTATCTGCTGCTG G	eeeeeddddddddeeee e	54	13497	1351 4	201 4
65504 7	2047	2064	CATCGCTGATTGTCCG G	eeeeeddddddddeeee e	61	13516	1353 3	201 6
65504 8	2048	2065	ACATCGCTGATTGTCC G	eeeeeddddddddeeee e	59	13517	1353 4	201 7
65504 9	2049	2066	CACATCGCTGATTGTCT C	eeeeeddddddddeeee e	84	13518	1353 5	201 8
65505 0	2097	2114	CAGCTCAAAGTCGACTC A	eeeeeddddddddeeee e	75	13566	1358 3	202 0

【0566】

10

20

30

40

【表 15 - 10】

65505			GAACAGTAGTCCCGCGC	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	202
1	2250	2267	T	e	74	13719	6	1
65505			CGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	202
2	2268	2285	G	e	58	13737	4	2
65505			GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	202
3	2274	2291	C	e	58	13743	0	3
65505			CACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	202
4	2283	2300	G	e	76	13752	9	5
65505			TTATCTGCTGCTGGCCT	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	201
5	2024	2041	T	e	57	13493	0	2
65505			TTGTTATCTGCTGCTGG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	201
6	2027	2044	C	e	50	13496	3	3
65505			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	201
7	2028	2045	G	e	63	13497	4	4
65505			CATCGCTGATTTGTCCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	201
8	2047	2064	G	e	80	13516	3	6
65505			ACATCGCTGATTTGTCC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	201
9	2048	2065	G	e	60	13517	4	7
65506			CACATCGCTGATTTGTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	201
0	2049	2066	C	e	68	13518	5	8
65506			CAGCTCAAAGTCGACTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1358	202
1	2097	2114	A	e	79	13566	3	0
65506			GAACAGTAGTCCCGCGC	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	202
2	2250	2267	T	e	51	13719	6	1
65506			CGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	202
3	2268	2285	G	e	74	13737	4	2
65506			GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	202
4	2274	2291	C	e	65	13743	0	3
65506			CACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	202
5	2283	2300	G	e	69	13752	9	5
65506			TTATCTGCTGCTGGCCT	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
6	2023	2041	TT	ee	50	13492	0	2
65506			TTGTTATCTGCTGCTGG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
7	2026	2044	CC	ee	60	13495	3	3
65506			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
8	2027	2045	GC	ee	65	13496	4	4
65506			CATCGCTGATTTGTCCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
9	2046	2064	GG	ee	71	13515	3	5
65507			ACATCGCTGATTTGTCC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
0	2047	2065	GG	ee	65	13516	4	6
65507			CACATCGCTGATTTGTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
1	2048	2066	CG	ee	87	13517	5	7

【 0 5 6 7 】

10

20

30

40

【表 1 5 - 1 1】

65507			CAGCTCAAAGTCGACTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1358	203
2	2096	2114	AT	ee	75	13565	3	9
65507			GAACAGTAGTCCCGCGC	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	204
3	2249	2267	TA	ee	73	13718	6	1
65507			CGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	204
4	2267	2285	GG	ee	70	13736	4	2
65507			GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	204
5	2273	2291	CT	ee	65	13742	0	3
65507			CACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	204
6	2282	2300	GT	ee	65	13751	9	4
65507			TTATCTGCTGCTGGCCT	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
7	2023	2041	TT	ee	40	13492	0	2
65507			TTGTTATCTGCTGCTGG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
8	2026	2044	CC	ee	57	13495	3	3
65507			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	203
9	2027	2045	GC	ee	66	13496	4	4
65508			CATCGCTGATTGTCCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
0	2046	2064	GG	ee	70	13515	3	5
65508			ACATCGCTGATTGTCC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
1	2047	2065	GG	ee	66	13516	4	6
65508			CACATCGCTGATTGTGTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	203
2	2048	2066	CG	ee	73	13517	5	7
65508			CAGCTCAAAGTCGACTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1358	203
3	2096	2114	AT	ee	81	13565	3	9
65508			GAACAGTAGTCCCGCGC	eeeeeeeeeeeeeeee			1373	204
4	2249	2267	TA	ee	65	13718	6	1
65508			CGGTTGGAATTCTTTT	eeeeeeeeeeeeeeee			1375	204
5	2267	2285	GG	ee	70	13736	4	2
65508			GCTGGTCGGTTGGAATT	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	204
6	2273	2291	CT	ee	69	13742	0	3
65508			CACAAACAAGCTGGTCG	eeeeeeeeeeeeeeee			1376	204
7	2282	2300	GT	ee	79	13751	9	4
65508			GTTATCTGCTGCTGGCC	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	230
8	2023	2042	TTT	eee	70	13492	1	
65508			GTTGTTATCTGCTGCTG	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	233
9	2026	2045	GCC	eee	42	13495	4	
65509			GGTTGTTATCTGCTGCT	eeeeeeeeeeeeeeee			1351	234
0	2027	2046	GGC	eee	82	13496	5	
65509			ACATCGCTGATTGTCC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	236
1	2046	2065	GGG	eee	66	13515	4	
65509			CACATCGCTGATTGTGTC	eeeeeeeeeeeeeeee			1353	237
2	2047	2066	CGG	eee	78	13516	5	

【 0 5 6 8 】

10

20

30

40

【表 15 - 12】

65509 3	2048	2067	ACACATCGCTGATTTGT CCG	eeeeeddddddddeee eee	90	13517	1353 6	238
65509 4	2096	2115	CCAGCTCAAAGTCGACT CAT	eeeeeddddddddeee eee	80	13565	1358 4	267
65509 5	2249	2268	GGAACAGTAGTCCCGCG CTA	eeeeeddddddddeee eee	84	13718	1373 7	170 8
65509 6	2267	2286	TCGGTTGGAATTCTTTT TGG	eeeeeddddddddeee eee	76	13736	1375 5	171 4
65509 7	2273	2292	AGCTGGTCGGTTGGAAT TCT	eeeeeddddddddeee eee	63	13742	1376 1	171 6
65509 8	2282	2301	TCACAAACAAGCTGGTC GGT	eeeeeddddddddeee eee	79	13751	1377 0	171 9
65509 9	2023	2042	GTTATCTGCTGCTGGCC TTT	eeeeeddddddddeee eee	75	13492	1351 1	230
65510 0	2026	2045	GTTGTTATCTGCTGCTG GCC	eeeeeddddddddeee eee	67	13495	1351 4	233
65510 1	2027	2046	GGTTGTTATCTGCTGCT GGC	eeeeeddddddddeee eee	78	13496	1351 5	234
65510 2	2046	2065	ACATCGCTGATTTGTCC GGG	eeeeeddddddddeee eee	82	13515	1353 4	236
65510 3	2047	2066	CACATCGCTGATTTGTC CGG	eeeeeddddddddeee eee	74	13516	1353 5	237
65510 4	2048	2067	ACACATCGCTGATTTGT CCG	eeeeeddddddddeee eee	71	13517	1353 6	238
65510 5	2096	2115	CCAGCTCAAAGTCGACT CAT	eeeeeddddddddeee eee	82	13565	1358 4	267
65510 6	2249	2268	GGAACAGTAGTCCCGCG CTA	eeeeeddddddddeee eee	68	13718	1373 7	170 8
65510 7	2267	2286	TCGGTTGGAATTCTTTT TGG	eeeeeddddddddeee eee	79	13736	1375 5	171 4
65510 8	2273	2292	AGCTGGTCGGTTGGAAT TCT	eeeeeddddddddeee eee	65	13742	1376 1	171 6
65510 9	2282	2301	TCACAAACAAGCTGGTC GGT	eeeeeddddddddeee eee	82	13751	1377 0	171 9

【0569】

実施例2：HepG2細胞におけるヒトアンジオテンシノーゲン（AGT）の用量依存性アンチセンス阻害

設計し、実施例1に記載の *in vitro* 単回投与アッセイで試験した2000以上のアンチセンスオリゴヌクレオチドのうち、AGT mRNAの著しい阻害を呈するアンチセンスオリゴヌクレオチドをいくつか選択し、HepG2細胞において種々の用量で更に試験した。いくつかの一連の実験で試験した例示的なアンチセンスオリゴヌクレオチドの結果を以下の表に示す。

【0570】

細胞を20,000細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して、以下の表15に明示するように、0.406 μM、0.813 μM、1.63 μM、3.25 μM、6.5 μM及び13.0 μM濃度のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした。約16時間の処置期間後、RNAを細胞から単離し、AGT mRNA

10

20

30

40

50

Aレベルを定量リアルタイムPCRによって測定した。ヒトプライマープローブセットRTS3721を使用してmRNAレベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定した全RNA含量に従ってAGT mRNAレベルを調整した。無処置の対照細胞に対するAGTの阻害率（％）として結果を示す。各オリゴヌクレオチドの50％阻害濃度（IC₅₀）も示す。アンチセンスオリゴヌクレオチド処置細胞では、AGT mRNAレベルが用量依存的に著しく減少した。

【0571】

【表16】

表15

ISIS番号	0.406 μM	0.813 μM	1.63 μM	3.25 μM	6.5 μM	13.0 μM	IC ₅₀ (μM)	配列番号
568550	34	36	55	68	78	83	1.3	46
568557	32	42	61	71	69	72	1.2	53
568558	30	31	54	67	72	80	1.6	54
568565	19	32	45	60	72	75	2.2	61
568572	29	17	56	53	65	63	2.9	68
568580	13	12	51	56	67	69	3	76
568589	32	46	61	69	78	88	1.1	85
568601	23	16	40	56	71	73	2.8	93
568605	37	45	61	68	76	77	1	97
568617	12	28	52	57	76	76	2.3	109
568635	21	27	40	61	82	90	2	127
568637	69	82	95	94	98	97	<0.4	129
568637	15	9	35	43	59	67	4.6	129
568638	31	60	74	86	93	90	0.6	130
568640	41	47	61	84	90	97	0.8	132
568642	30	41	71	83	94	97	0.9	134
568643	33	51	74	83	92	93	0.7	135
568645	26	38	55	74	88	92	1.3	137
568646	15	37	57	72	88	94	1.4	138
568647	32	50	71	85	94	96	0.8	139
568650	44	51	70	79	87	90	0.6	142

【0572】

細胞を20,000細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して、以下の表16に明示するように、39.1nM、156.3nM、625.0nM、2500nM及び10,000nM濃度のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした。約16時間の処置期間後、RNAを細胞から単離し、AGT mRNAレベルを定量リアルタイムPCRによって測定した。ヒトプライマープローブセットRTS3721を使用してmRNAレベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定した全RNA含量に従ってAGT mRNAレベルを調整した。無処置の対照細胞に対するAGTの阻害率（％）として結果を示す。結果は、2回の試験の平均である。各オリゴヌクレオチドの50％阻害濃度（IC₅₀）も示す。アンチセンスオリゴヌクレオチド処置細胞では、AGT mRNAレベルが用量依存的に著しく減少した。

【0573】

【表 1 7】

表 1 6

ISIS 番号	39.1 nM	156.3 nM	625.0 nM	2500 nM	10,000 nM	IC ₅₀ (μ M)	配列番 号
568637	-2	33	77	92	98	0.4	129
594622	15	52	84	96	97	0.3	163
594623	16	30	65	87	96	0.4	164
594624	13	37	74	92	96	0.4	129
594625	14	31	74	90	95	0.4	165
594626	11	20	58	84	94	0.6	166
594627	11	36	72	93	95	0.3	167
594628	-30	4	51	78	87	1.1	168
594629	-20	-1	39	67	94	1.4	169
594630	-10	13	35	52	78	2.4	170
594631	13	13	49	81	94	0.6	171
594632	2	27	60	85	97	0.6	172

10

【0 5 7 4】

細胞を20,000細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して、以下の表17及び18に明示するように、312.5nM、625nM、1250nM、2500nM及び5000nM濃度のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした。約16時間の処置期間後、RNAを細胞から単離し、AGT mRNAレベルを定量リアルタイムPCRによって測定した。ヒトプライマープローブセットRTS3721を使用してmRNAレベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定した全RNA含量に従ってAGT mRNAレベルを調整した。無処置の対照細胞に対するAGTの阻害率（％）として結果を示す。結果は、2回の試験の平均である。各オリゴヌクレオチドの50％阻害濃度（IC₅₀）も示す。アンチセンスオリゴヌクレオチド処置細胞では、AGT mRNAレベルが用量依存的に著しく減少した。

20

【0 5 7 5】

【表 1 8 - 1】

表 1 7

ISIS 番号	312.5 nM	625 nM	1250 nM	2500 nM	5000 nM	IC ₅₀ (μ M)	配列番 号
568637	51	71	84	89	93	0.2	129
594625	52	73	84	92	95	0.2	165
611933	-7	7	5	1	-2	>5	313
612024	22	39	48	73	80	1.1	46
612025	21	15	36	59	64	2.2	654
612058	49	52	53	72	74	0.5	53
612063	22	38	56	63	65	1.3	689
612077	35	37	45	67	74	1.1	702
612101	32	59	68	83	93	0.6	725
612102	53	67	80	85	91	0.2	726
612104	41	51	50	72	83	0.7	728
612117	25	47	56	68	73	1.0	738
612134	40	43	49	67	79	0.9	894
612147	30	48	74	76	82	0.7	905
612151	33	38	51	71	81	1.0	909
612202	33	49	62	83	87	0.7	954
612315	7	33	55	72	76	1.3	779
612322	29	48	61	78	87	0.8	786
612323	42	60	82	87	91	0.4	787
612336	31	59	72	83	89	0.5	800

10

20

【0 5 7 6】

【表 18-2】

612344	31	39	69	76	85	0.8	808
612346	13	42	55	74	86	1.1	810
612347	29	46	71	83	90	0.7	811
612448	15	26	59	76	86	1.1	411
612491	16	14	33	29	49	8.0	452
612502	28	37	58	75	89	0.9	463
612503	44	55	75	83	91	0.4	464
612504	17	44	63	68	88	1.0	465
612505	43	50	66	76	90	0.5	466
612506	32	44	70	81	91	0.7	467
612507	24	45	49	70	81	1.0	468
612509	25	43	60	77	88	0.9	470
612514	44	41	59	79	92	0.6	475
612515	21	38	48	61	78	1.3	476
612516	38	47	74	79	93	0.6	477
612517	33	37	60	75	86	0.8	478
612519	14	16	38	54	64	2.4	480
612540	38	53	76	80	91	0.5	500
612541	38	51	58	83	90	0.6	501
612542	43	61	73	83	94	0.4	502
612543	34	53	64	81	91	0.6	503
612553	44	64	78	87	91	0.3	512
612559	36	59	74	89	95	0.5	517
612560	49	57	68	80	95	0.4	518
612567	38	50	57	83	85	0.6	524
612568	32	67	73	86	92	0.5	525
612569	27	54	71	78	93	0.7	526
612615	44	64	65	70	75	0.3	825
612658	19	23	43	57	58	2.3	865
612662	39	47	62	77	75	0.6	868

【0577】

10

20

30

【表 1 9】

表 1 8

ISIS 番号	312.5 nM	625 nM	1250 nM	2500 nM	5000 nM	IC ₅₀ (μ M)	配列番 号
568637	57	79	89	95	97	<0.3	129
594625	72	80	91	97	97	<0.3	165
610015	41	70	72	84	92	0.3	239
612129	28	40	67	71	84	0.9	889
612135	41	40	47	62	73	1.0	68
612145	22	48	54	61	65	1.3	903
612185	16	29	36	45	62	2.7	83
612239	42	57	65	66	72	0.5	966
612252	23	22	30	61	60	2.4	96
612806	52	73	67	76	73	<0.3	1011
612810	24	36	57	73	79	1.1	1015
612816	14	30	24	51	61	2.9	1021
612819	31	40	53	64	67	1.2	1024
612901	40	44	54	72	80	0.8	1080
612906	4	9	21	37	39	8.8	1085

10

20

【0 5 7 8】

細胞を20,000細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して、以下の表19に明示するように、37 nM、111 nM、333 nM、1,000 nM及び3,000 nM濃度のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした。約16時間の処置期間後、RNAを細胞から単離し、AGT mRNAレベルを定量リアルタイムPCRによって測定した。ヒトプライマープローブセットRTS3721を使用してmRNAレベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定した全RNA含量に従ってAGT mRNAレベルを調整した。無処置の対照細胞に対するAGTの阻害率（％）として結果を示す。結果は、2回の試験の平均である。各オリゴヌクレオチドの50％阻害濃度（IC₅₀）も示す。アンチセンスオリゴヌクレオチド処置細胞では、AGT mRNAレベルが用量依存的に著しく減少した。

30

【0 5 7 9】

【表 20】

表 19

ISIS 番号	37 nM	111 nM	333 nM	1000 nM	3000 nM	IC ₅₀ (μ M)	配列番 号
568637	10	59	74	88	98	0.1	129
594622	46	58	65	89	96	0.1	163
594625	24	46	68	85	94	0.1	165
594628	13	48	53	74	91	0.2	168
609089	44	27	61	72	92	0.2	184
609094	-3	41	67	87	96	0.2	130
622210	18	36	51	74	95	0.3	180
622212	38	51	85	88	97	0.1	182
622213	41	51	69	89	97	0.1	164
622215	36	40	61	84	89	0.1	165
622216	18	51	60	85	96	0.2	183
622220	48	51	63	81	90	0.1	186
622221	28	46	62	76	88	0.2	167
622224	8	32	55	77	91	0.3	130
622238	45	33	60	67	91	0.2	132

10

20

【0580】

細胞を20,000細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して、以下の表20に明示するように。12.3 nM、37 nM、111 nM、333 nM、1,000 nM及び3,000 nM濃度のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした。約16時間の処置期間後、RNAを細胞から単離し、AGT mRNAレベルを定量リアルタイムPCRによって測定した。ヒトプライマープローブセットRTS3721を使用してmRNAレベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定した全RNA含量に従ってAGT mRNAレベルを調整した。無処置の対照細胞に対するAGTの阻害率（％）として結果を示す。結果は、2回の試験の平均である。各オリゴヌクレオチドの50％阻害濃度（IC₅₀）も示す。アンチセンスオリゴヌクレオチド処置細胞では、AGT mRNAレベルが用量依存的に著しく減少した。

30

【0581】

【表 2 1】

表 2 0

ISIS 番号	12.3 nM	37 nM	111 nM	333 nM	1000 nM	3000 nM	IC ₅₀ (μ M)	配列番号
568637	-5	6	24	69	86	95	0.2	129
594622	1	-1	32	63	88	97	0.2	163
594624	9	0	54	57	87	92	0.2	129
594625	14	11	6	47	81	93	0.3	165
609086	26	3	35	72	92	97	0.1	181
609087	-9	16	38	63	81	90	0.2	182
609088	11	9	44	61	86	97	0.2	183
609091	3	7	27	58	75	92	0.3	186
609095	-4	-15	20	67	88	98	0.3	189
622211	21	7	3	50	85	94	0.3	181
622214	8	19	39	69	89	96	0.1	129
622225	5	19	30	59	82	97	0.2	189

10

【0582】

細胞を20,000細胞／ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して、以下の表21に明示するように、0.33 μ M、1.0 μ M、3.0 μ M及び9.0 μ M濃度のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした。約16時間の処置期間後、RNAを細胞から単離し、AGT mRNAレベルを定量リアルタイムPCRによって測定した。ヒトプライマープローブセットRTS3721を使用してmRNAレベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定した全RNA含量に従ってAGT mRNAレベルを調整した。無処置の対照細胞に対するAGTの阻害率（％）として結果を示す。各オリゴヌクレオチドの50％阻害濃度（IC₅₀）も示す。アンチセンスオリゴヌクレオチド処置細胞では、AGT mRNAレベルが用量依存的に著しく減少した。

20

【0583】

30

【表 2 2 - 1】

表 2 1

ISIS 番号	0.33 μ M	1.0 μ M	3.0 μ M	9.0 μ M	IC ₅₀ (μ M)	配列番 号
568637	74	74	95	97	0.03	129
568637	52	80	89	95	0.2	129
610015	47	64	90	92	0.4	239
610015	25	51	79	92	1	239
654385	2	38	71	82	1.9	1827
654394	24	47	80	90	1.1	1836
654401	27	57	85	89	0.8	1843
654402	11	38	72	90	1.5	1844
654404	16	47	79	82	1.3	1846
654444	18	48	78	91	1.2	1886
654451	34	59	83	93	0.7	1893
654452	35	50	82	92	0.8	1894
654472	23	49	79	93	1	1914
654481	22	53	79	93	1	1923
654483	28	63	80	95	0.8	1925
654490	31	55	68	95	0.9	1932
654559	16	44	75	92	1.3	1979
654566	20	40	78	84	1.3	1986
654568	37	58	81	92	0.6	1988
654570	19	39	71	89	1.4	1990

10

20

【0 5 8 4】

【表 2 2 - 2】

654691	31	57	86	92	0.7	2003
654707	32	72	90	95	0.5	2015
654737	31	69	83	96	0.6	2018
654740	36	67	82	94	0.5	2020
654768	29	64	82	95	0.7	2027
654771	43	72	84	89	0.3	2028
654815	25	51	78	91	1	2035
654817	23	55	89	95	0.9	2037
654832	12	46	75	94	1.3	2044
654843	20	57	85	87	1	2037
654846	26	57	84	92	0.8	2039
654999	48	63	82	93	0.4	238
655002	29	64	86	94	0.7	267
655049	38	67	88	95	0.5	2018
655071	47	64	84	96	0.4	2037
655093	35	71	86	93	0.5	238
655095	28	54	80	86	0.9	1708
655102	42	54	77	90	0.6	236

30

40

【0 5 8 5】

細胞を 20, 000 細胞/ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して

50

、以下の表 2 2 に明示するように、0.44 μ M、1.33 μ M、4.0 μ M 及び 12.0 μ M 濃度のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした。約 16 時間の処置期間後、RNA を細胞から単離し、AGT mRNA レベルを定量リアルタイム PCR によって測定した。ヒトプライマープローブセット RTS 3721 を使用して mRNA レベルを測定した。RIBOGREEN（登録商標）によって測定した全 RNA 含量に従って AGT mRNA レベルを調整した。無処置の対照細胞に対する AGT の阻害率（％）として結果を示す。各オリゴヌクレオチドの 50％阻害濃度（IC₅₀）も示す。アンチセンスオリゴヌクレオチド処置細胞では、AGT mRNA レベルが用量依存的に著しく減少した。

【0586】

【表 23-1】

表 2 2

ISIS 番号	0.44 μ M	1.33 μ M	4.0 μ M	12.0 μ M	IC ₅₀ (μ M)	配列番 号
610010	15	67	84	96	1.2	234
610010	20	64	85	97	1.1	234
610015	39	76	90	94	0.5	239
610015	43	73	91	98	0.5	239
619539	21	33	45	74	3.5	1258
619540	7	22	40	70	5.3	1259
619542	22	34	69	84	2.1	1261
619543	29	33	59	70	2.8	1262
619574	34	43	56	80	1.8	1293
619575	20	35	59	74	2.8	1294
619580	19	37	53	79	2.8	1299
619606	24	39	48	57	5.1	1325
619751	2	20	49	77	4.0	1470
619753	6	23	57	83	3.2	1472
619754	7	22	52	72	4.1	1473
619803	74	82	87	92	<0.4	1522
619823	47	64	72	86	0.5	1542
619885	20	34	61	80	2.4	1604

【0587】

10

20

30

【表 2 3 - 2】

619904	30	45	70	87	1.5	1623
619905	11	34	65	78	2.7	1624
619951	49	68	94	99	0.4	1667
619954	7	68	82	95	1.4	1670
619966	33	73	90	96	0.7	1682
619967	42	67	89	92	0.6	1683
619971	1	44	76	90	2.1	1687
619984	35	63	91	95	0.8	1700
619987	73	84	96	98	<0.4	1703
619988	40	71	92	95	0.6	1704
619992	42	71	90	97	0.5	1708
619998	31	64	90	98	0.8	1714
620000	29	61	82	94	1.0	1716
620003	45	77	93	98	0.4	1719
620004	52	78	93	98	0.3	1720
620008	46	72	88	96	0.4	1724
620009	61	82	96	98	<0.4	1725
620010	58	83	97	96	<0.4	1726
620013	46	77	90	98	0.4	1729
620014	26	31	76	92	1.7	1730

【0588】

実施例3：トランスジェニックマウスモデルにおけるヒトAGTを標的にするアンチセンスオリゴヌクレオチドの単回投与処置の忍容性及び有効性

トランスジェニック (Tg) マウスモデル「huAGT」を作製し、このhuAGT Tgモデルでアンチセンスオリゴヌクレオチドの有効性を評価した。in vitro試験から選択したAGTアンチセンスオリゴヌクレオチドをhuAGTマウスで評価した。

【0589】

huAGTトランスジェニックマウスを12時間の明暗サイクルで飼育し、通常ラット用飼料を不断給餌した。動物は、実験開始前に研究施設で少なくとも7日間馴化させた。アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) を緩衝生理食塩水 (PBS) で調製し、0.2 μm フィルターで濾過することによって滅菌した。オリゴヌクレオチドを注射用に0.9% PBS中に溶解した。

【0590】

処置 # 1

雌の10週齢のトランスジェニックhuAGTマウスをマウス各4匹の群に分けた。8群に対して、2.5週間にわたって、アンチセンスオリゴヌクレオチドの皮下注射を20 mg/kgの用量で週1回行った (処置3回)。マウスの1群に、2.5週間、PBSの皮下注射を週1回行った。この生理食塩水注射群をオリゴヌクレオチド処置群と比較する対照群とした。

【0591】

RNA分析、処置 # 1

17日目に、ヒトAGT mRNA発現に関するリアルタイムPCR解析及び測定のために、トランスジェニックマウスの肝臓及び腎臓から全RNAを抽出した。結果を、RIBOGREEN (登録商標) により正規化した、PBS対照に対する阻害率 (%) として示す。表23に示すように、ほとんどのアンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置は、PBS対照と比較して、ヒトAGT mRNAの著しい減少をもたらした。

【0592】

【表 2 4】

表 2 3

PBS 対照と比較したトランスジェニックマウスの肝臓及び腎臓における h u A G T m R N A の阻害率

ISIS 番号	肝臓	腎臓	配列番号
568605	42	20	97
568637	77	39	129
568638	56	11	130
568640	38	49	132
568642	0	7	134
568643	41	8	135
568647	49	32	139
568650	34	13	142

10

【0 5 9 3】

血漿中化学マーカー、処置 # 1

アンチセンスオリゴヌクレオチドの肝機能及び腎機能に対する作用を評価するために、臨床化学自動分析装置（Hitachi Olympus AU400e (Melville, NY)）を使用して、アミノ基転移酵素、総ビリルビン及び血中尿素窒素（BUN）の血漿中レベルを測定した。結果を表 2 4 に示す。肝機能または腎機能マーカーのうちのいずれかのレベル変化が、アンチセンスオリゴヌクレオチドについて予想される範囲を越えて生じたアンチセンスオリゴヌクレオチドは、更なる試験から除外した。

20

【0 5 9 4】

【表 2 5】

表 2 4

雌のトランスジェニック h u A G T マウスにおける血漿中化学マーカー

ISIS 番号	ALT (U/L)	AST (U/L)	総ビリルビン (mg/dL)	BUN (mg/dL)
PBS	22	54	0.18	28
568605	40	82	0.19	28
568637	30	57	0.19	30
568638	39	67	0.21	27
568640	78	141	0.28	31
568642	127	227	0.39	25
568643	35	66	0.16	31
568647	26	46	0.18	27
568650	71	105	0.18	27

30

40

【0 5 9 5】

体重及び器官重量、処置 # 1

トランスジェニックマウスの体重を 15 日目に測定した。各群の平均体重を以下の表に示す。肝臓、脾臓及び腎臓の重量を試験終了時に測定した。これを表 2 5 に示す。器官重量の何らかの変化が、アンチセンスオリゴヌクレオチドについて予想される範囲を越えて生じたアンチセンスオリゴヌクレオチドは、更なる試験から除外した。

【0 5 9 6】

【表 2 6】

表 2 5

体重及び器官重量 (グラム単位)

ISIS 番号	体重 (g)	腎臓 (g)	肝臓 (g)	脾臓 (g)
PBS	18.8	0.3	0.9	0.08
568605	19.0	0.2	1.0	0.09
568637	19.3	0.3	1.0	0.08
568638	20.5	0.3	0.9	0.11
568640	19.7	0.3	1.0	0.09
568642	19.3	0.3	1.0	0.08
568643	19.9	0.3	1.0	0.09
568647	20.6	0.3	1.0	0.09
568650	20.0	0.3	1.0	0.09

10

【0 5 9 7】

処置 # 2

h u A G T マウス 2 匹からなる群のそれぞれに、2 週間にわたって、アンチセンスオリゴヌクレオチドの皮下注射を 2 5 m g / k g / 週の用量で行った。h u A G T マウスの 1 群に P B S の皮下注射を行い、これをオリゴヌクレオチド処置群と比較する対照群とした。

20

【0 5 9 8】

RNA 分析、処置 # 2

1 0 日目に、ヒト A G T m R N A 発現に関するリアルタイム P C R 解析及び測定のために、トランスジェニックマウスの肝臓から全 R N A を抽出した。結果を、マウス 2 匹の各群について平均し、R I B O G R E E N (登録商標) により正規化した、P B S 対照に対する阻害率 (%) として示す。表 2 6 に示すように、ほとんどのアンチセンスアンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置は、P B S 対照と比較して、ヒト A G T m R N A の著しい減少をもたらした。

30

【0 5 9 9】

【表 2 7】

表 2 6

P B S 対照と比較したトランスジェニックマウスの肝臓におけるヒト A G T
m R N A の阻害率

ISIS 番号	阻害率	配列番号
568637	96	129
610010	66	234
610015	29	239
619967	59	1683
619984	56	1700
619987	25	1703
619988	38	1704
619992	70	1708
619998	75	1714
620000	75	1716
620003	56	1719
620004	27	1720
620008	4	1724
620009	41	1725
620010	72	1726
620013	65	1729

10

20

【0 6 0 0】

血漿中化学マーカー、処置 # 2

アンチセンスオリゴヌクレオチドの肝機能に対する作用を評価するために、臨床化学自動分析装置（Hitachi Olympus AU400e (Melville, NY)）を使用して、アミノ基転移酵素の血漿中レベルを測定した。結果を、マウス2匹の各群について平均し、表27に示す。肝機能マーカーのうちのいずれかのレベル変化が、アンチセンスオリゴヌクレオチドについて予想される範囲を越えて生じたアンチセンスオリゴヌクレオチドは、更なる試験から除外した。

30

【0 6 0 1】

【表 2 8】

表 2 7

雌のトランスジェニック h u A G T マウスにおける血漿中化学マーカー

ISIS 番号	ALT (U/L)	AST (U/L)
PBS	29	58
568637	29	82
610010	28	72
610015	71	103
619967	58	179
619984	23	41
619987	24	39
619988	29	107
619992	26	43
619998	25	71
620000	31	106
620003	24	46
620004	24	105
620008	24	51
620009	28	53
620010	24	38
620013	41	130

10

20

【0 6 0 2】

体重及び器官重量、処置 # 2

全処置群の h u A G T マウスの体重を 1 日目及び 8 日目に測定した。1 0 日目に動物を屠殺し、その肝臓を摘出し、重量を測定した。結果を、マウス 2 匹の各群について平均し、表 2 8 に示す。器官重量の何らかの変化が、アンチセンスオリゴヌクレオチドについて予想される範囲を越えて生じたアンチセンスオリゴヌクレオチドは、更なる試験から除外した。

30

【0 6 0 3】

【表 2 9】

表 2 8

体重及び肝臓重量 (グラム単位)

ISIS 番号	1 日目 体重 (g)	8 日目 体重 (g)	肝臓 (g)
PBS	18.3	18.8	1.0
568637	20.0	20.5	1.1
610010	19.0	19.4	1.1
610015	19.9	20.7	1.2
619967	19.8	19.9	1.0
619984	18.9	19.3	1.0
619987	20.2	20.5	1.2
619988	17.3	18.2	0.9
619992	18.3	19.4	1.0
619998	18.8	19.0	1.0
620000	19.7	20.4	1.1
620003	19.8	20.2	1.0
620004	21.0	21.6	1.1
620008	20.0	19.8	1.0
620009	18.9	19.0	1.0
620010	18.9	19.6	1.0
620013	19.7	20.3	1.1

10

20

【0604】

処置 # 3

h u A G T マウス 2 匹からなる群のそれぞれに、2 週間にわたって、アンチセンスオリゴヌクレオチドの皮下注射を 2 5 m g / k g / 週の用量で行った。h u A G T マウス 4 匹の 1 群に P B S の皮下注射を行い、これをオリゴヌクレオチド処置群と比較する対照群とした。

30

【0605】

R N A 分析、処置 # 3

1 0 日目に、ヒト A G T m R N A 発現に関するリアルタイム P C R 解析及び測定のために、トランスジェニックマウスの肝臓から全 R N A を抽出した。結果を、マウス 2 匹の各群について平均し、R I B O G R E E N (登録商標) により正規化した、P B S 対照に対する阻害率 (%) として示す。表 2 9 に示すように、ほとんどのアンチセンスアンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置は、P B S 対照と比較して、ヒト A G T m R N A の著しい減少をもたらした。

【0606】

40

【表 3 0】

表 2 9

P B S 対照と比較したトランスジェニックマウスの肝臓におけるヒト A G T
m R N A の阻害率

ISIS 番号	阻害率	配列番号
568637	93	129
654401	63	1843
654451	43	1893
654452	48	1894
654472	69	1914
654481	0	1923
654483	58	1925
654490	80	1932
654568	70	1988
654691	81	2003
654707	32	2015
654740	0	2020
654771	0	2028
654999	76	238
655049	75	2018
655071	81	2037
655093	59	238

10

20

【0 6 0 7】

血漿中化学マーカー、処置 # 3

アンチセンスオリゴヌクレオチドの肝機能に対する作用を評価するために、臨床化学自動分析装置（H i t a c h i O l y m p u s A U 4 0 0 e (M e l v i l l e , N Y)）を使用して、アミノ基転移酵素の血漿中レベルを測定した。結果を、マウス 2 匹の各群について平均し、表 3 0 に示す。肝機能マーカーのうちのいずれかのレベル変化が、アンチセンスオリゴヌクレオチドについて予想される範囲を越えて生じたアンチセンスオリゴヌクレオチドは、更なる試験から除外した。

30

【0 6 0 8】

【表 3 1】

表 3 0

雌のトランスジェニック h u A G T マウスにおける血漿中化学マーカー

ISIS 番号	ALT (U/L)	AST (U/L)
PBS	32	44
568637	36	41
654401	34	44
654451	52	82
654452	29	54
654472	50	78
654481	35	43
654483	28	62
654490	28	75
654568	35	60
654691	32	54
654707	48	65
654740	43	55
654771	59	166
654999	31	60
655049	27	61
655071	42	67
655093	26	50

10

20

【0 6 0 9】

体重及び器官重量、処置 # 3

全処置群の h u A G T マウスの体重を 1 日目及び 8 日目に測定した。1 0 日目に動物を屠殺し、その肝臓を摘出し、重量を測定した。結果を、マウス 2 匹の各群について平均し、表 3 1 に示す。重量の何らかの変化が、アンチセンスオリゴヌクレオチドについて予想される範囲を越えて生じたアンチセンスオリゴヌクレオチドは、更なる試験から除外した。

30

【0 6 1 0】

【表 3 2】

表 3 1

体重及び肝臓重量

ISIS 番号	1 日目 体重 (g)	8 日目 体重 (g)	肝臓 (g)
PBS	26.7	27.4	1.5
568637	28.6	29.9	1.7
654401	29.1	30.9	1.9
654451	27.0	27.4	1.4
654452	26.6	27.2	1.4
654472	29.7	30.8	1.8
654481	28.3	29.4	1.6
654483	25.8	26.4	1.3
654490	28.6	28.7	1.5
654568	28.6	29.6	1.7
654691	29.6	31.1	1.7
654707	29.3	30.4	1.9
654740	29.1	29.8	1.7
654771	29.1	30.3	1.7
654999	28.2	29.0	1.6
655049	29.8	32.2	1.8
655071	28.5	30.4	1.8
655093	28.0	29.7	1.6

10

20

【0 6 1 1】

処置 # 4

雄の 6 週齢のトランスジェニック hu AGT マウスをマウス各 3 ～ 4 匹の群に分けた。8 群に対して、2 週間にわたって、アンチセンスオリゴヌクレオチドの皮下注射を 5 mg / k g の用量で週 1 回行った。マウスの 1 群に、2 週間、PBS の皮下注射を週 1 回行った。この生理食塩水注射群をオリゴヌクレオチド処置群と比較する対照群とした。

30

【0 6 1 2】

RNA 分析、処置 # 4

17 日目に、ヒト AGT mRNA 発現に関するリアルタイム PCR 解析及び測定のために、トランスジェニックマウスの肝臓及び腎臓から全 RNA を抽出した。結果を、RIBOGREEN（登録商標）により正規化した、PBS 対照に対する阻害率（%）として示す。表 3 2 に示すように、ほとんどのアンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置は、PBS 対照と比較して、ヒト AGT mRNA の著しい減少をもたらした。

【0 6 1 3】

40

【表 3 3】

表 3 2

PBS 対照と比較したトランスジェニックマウスの肝臓及び腎臓における h u A G T m R N A の阻害率

ISIS 番号	肝臓	腎臓	配列番号
594622	81	90	163
594623	32	55	164
594624	79	67	129
594625	91	70	165
594626	76	81	166
594627	82	88	167
594628	28	22	168
594629	17	20	169
594630	37	35	170
594631	45	75	171
594632	50	51	172
568637	67	54	129

【0 6 1 4】

血漿中化学マーカー、処置 # 4

15 日目に、アンチセンスオリゴヌクレオチドの肝機能及び腎機能に対する作用を評価するために、臨床化学自動分析装置 (Hitachi Olympus AU400e (Melville, NY)) を使用して、アミノ基転移酵素、総ビリルビン及び血中尿素窒素 (BUN) の血漿中レベルを測定した。結果を表 3 3 に示す。肝機能マーカーのうちのいずれかのレベル変化が、アンチセンスオリゴヌクレオチドについて予想される範囲を越えて生じたアンチセンスオリゴヌクレオチドは、更なる試験から除外した。

【0 6 1 5】

【表 3 4】

表 3 3

雌のトランスジェニック h u A G T マウスにおける血漿中化学マーカー

ISIS 番号	ALT (U/L)	AST (U/L)	総ビリルビン (mg/dL)	BUN (mg/dL)
PBS	77	118	0.18	40
594622	71	152	0.24	34
594623	57	92	0.18	36
594624	53	72	0.14	40
594625	92	116	0.17	36
594626	43	68	0.15	37
594627	50	67	0.17	35
594628	86	210	0.24	34
594629	55	68	0.16	31
594630	55	59	0.16	32
594631	32	44	0.15	36
594632	58	59	0.15	35
568637	110	371	0.22	31

【0 6 1 6】

体重及び器官重量、処置 # 4

トランスジェニックマウスの体重を1、8及び13日目に測定した。各群の平均を以下の表に示す。また、15日目に、肝臓、脾臓及び腎臓の重量を測定した。これを表34に示す。重量の何らかの変化が、アンチセンスオリゴヌクレオチドについて予想される範囲を越えて生じたアンチセンスオリゴヌクレオチドは、更なる試験から除外した。

【0617】

【表35】

表34

体重及び器官重量（グラム単位）

ISIS 番号	体重 (g)			腎臓 (g)	肝臓 (g)	脾臓 (g)
	1 日目	8 日目	13 日目			
PBS	20.4	21.6	21.5	0.3	1.2	0.08
594622	18.5	21.6	21.6	0.3	1.5	0.11
594623	18.1	20.4	20.3	0.3	1.2	0.06
594624	19.8	22.8	22.6	0.3	1.3	0.08
594625	20.3	22.2	22.1	0.3	1.3	0.06
594626	21.6	22.9	22.7	0.3	1.2	0.07
594627	21.9	22.8	22.7	0.3	1.2	0.07
594628	20.6	22.2	21.9	0.3	1.2	0.07
594629	20.8	22.1	22.0	0.3	1.2	0.07
594630	22.2	24.0	23.7	0.3	1.2	0.08
594631	20.2	21.9	21.6	0.3	1.1	0.07
594632	21.3	22.5	22.4	0.3	1.3	0.07
568637	20.1	21.4	21.5	0.3	1.2	0.05

10

20

【0618】

実施例4：トランスジェニックマウスモデルにおけるヒトAGTを標的にするアンチセンスオリゴヌクレオチドの反復投与処置の忍容性及び有効性

30

huAGTトランスジェニックマウスにおける単回投与試験から選択したAGTアンチセンスオリゴヌクレオチドを、huAGTトランスジェニックマウスにおける用量反応試験で更に評価した。

【0619】

huAGTトランスジェニックマウスを12時間の明暗サイクルで飼育し、通常ラット用飼料を不断給餌した。動物は、実験開始前に研究施設で少なくとも7日間馴化させた。アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)を緩衝生理食塩水(PBS)で調製し、0.2マイクロフィルターで濾過することによって滅菌した。オリゴヌクレオチドを注射用に0.9%PBS中に溶解した。

40

【0620】

処置 # 1

4点用量反応試験のために、雄のhuAGTマウスをマウス各4匹からなる37群に分けた。36群に対して、2.5週間にわたって、アンチセンスオリゴヌクレオチドの皮下注射を5、10、25及び50mg/kg/週の用量で行った(合計3回の投与)。huAGTマウスの1群に生理食塩水の皮下注射を行い、これをオリゴヌクレオチド処置群と比較する対照群とした。

【0621】

RNA分析、処置 # 1

17日目に、huAGTマウスを屠殺し、ヒトAGT mRNA発現に関するリアルタ

50

イムPCR解析及び測定のために、肝臓及び腎臓から全RNAを抽出した。RT-PCRの結果を、RIBOGREEN（登録商標）により正規化した、生理食塩水処置対照群に対する平均阻害率（％）として示す。表35に示すように、選択したアンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置は、生理食塩水対照と比較して、ヒトAGT mRNAの著しい減少をもたらした。

【0622】

【表36-1】

表35

9つの有力なASOで処置したhuAGTマウスの器官におけるヒトAGT mRNAの阻害率

ISIS 番号	mg/kg/週	ED50	肝臓	腎臓	配列番号
619998	50	7	96	71	1714
	25		89	59	
	10		80	69	
	5		45	47	
620003	50	10	80	69	1719
	25		91	68	
	10		51	52	
	5		35	58	
654451	50	9	94	56	1893
	25		81	48	
	10		36	43	
	5		11	48	

【0623】

10

20

【表 3 6 - 2】

654452	50	8	82	53	1894
	25		77	59	
	10		69	62	
	5		0	54	
654472	50	5	81	41	1914
	25		82	62	
	10		51	50	
	5		46	51	
654481	50	～47	84	70	1923
	25		31	54	
	10		47	59	
	5		52	67	
654483	50	18	78	33	1925
	25		77	45	
	10		84	73	
	5		11	41	
654691	50	6	93	70	2003
	25		87	78	
	10		43	70	
	5		54	70	
654999	50	1	99	87	238
	25		95	76	
	10		74	78	
	5		69	81	

10

20

【0 6 2 4】

体重及び器官重量、処置 # 1

30

全処置群の h u A G T マウスの体重を実験の 1、8 及び 15 日目に測定した。結果を、各マウス群について平均し、表 3 6 に示す。

【0 6 2 5】

【表 3 7 - 1】

表 3 6

9 つの有力な A S O で処置した h u A G T マウスの体重 (B W)

ISIS 番号	mg/kg/ 週	BW (グラム)		
		1 日 目	8 日 目	15 日 目
生理食塩水	n/a	28	29	29
619998	50	30	30	31
	25	29	29	30
	10	32	32	32
	5	32	32	31
620003	50	31	32	32
	25	32	32	33
	10	30	30	30
	5	32	32	32

40

50

【 0 6 2 6 】

【表 3 7 - 2】

654451	50	27	28	28
	25	28	28	28
	10	26	27	27
	5	27	28	29
654452	50	28	29	28
	25	27	28	28
	10	27	28	27
	5	28	28	29
654472	50	26	27	28
	25	27	27	28
	10	25	26	27
	5	27	27	28
654481	50	28	29	29
	25	33	34	34
	10	32	33	33
	5	30	32	32
654483	50	34	36	36
	25	31	31	32
	10	29	30	30
	5	31	32	32
654691	50	29	30	30
	25	30	31	31
	10	30	31	32
	5	30	30	30
654999	50	33	33	34
	25	33	32	32
	10	31	31	31
	5	31	31	31

10

20

30

【 0 6 2 7 】

処置 # 2

別の 4 点用量反応試験のために、5 つの強力なヒト A G T 標的化アンチセンスオリゴヌクレオチド（I S I S 番号 6 2 0 0 0 3、6 5 4 4 5 1、6 5 4 4 7 2、6 5 4 6 9 1 及び 6 5 4 9 9 9）を先の試験から選択し、*in vitro* で強力であり、また *hu A G T* トランスジェニックマウス単回投与試験で強力かつ忍容性を示した I S I S 5 6 8 6 3 7 と比較した。この試験では、*hu A G T* マウスをマウス各 3 匹からなる 2 5 群に分けた。これらの群に、1 0 日にわたって、アンチセンスオリゴヌクレオチドの皮下注射を 1、4、1 0 及び 4 0 m g / k g の用量で 2 回の注射により行った。*hu A G T* マウス 3 匹の 1 群に生理食塩水の皮下注射を行い、これをオリゴヌクレオチド処置群と比較する対照群とした。

40

【 0 6 2 8 】

R N A 分析、処置 # 2

1 0 日目に、アンチセンスオリゴヌクレオチド処置 *hu A G T* マウスを屠殺し、ヒト A G T m R N A 発現に関するリアルタイム P C R 解析及び測定のために、肝臓及び腎臓から全 R N A を抽出した。結果を、R I B O G R E E N（登録商標）により正規化した、P B S 対照群に対する m R N A 平均阻害率（％）として示す。表 3 7 に示すように、アンチ

50

センスオリゴヌクレオチドによる処置は、生理食塩水対照と比較して、ヒト A G T m R N A の著しい減少をもたらした。

【0629】

【表38】

表37

5つの有力な A S O で処置した h u A G T マウスの器官におけるヒト A G T m R N A の阻害率

ISIS 番号	mg/kg	ED50 AGT mRNA	肝臓	腎臓	配列番号
568637	1	4.1	16	54	129
	4		42	69	
	10		82	82	
	40		96	90	
620003	1	9.5	22	25	1719
	4		29	32	
	10		54	50	
	40		81	49	
654451	1	8.0	18	31	1893
	4		24	32	
	10		59	49	
	40		87	58	
654472	1	5.6	15	13	1914
	4		26	38	
	10		64	59	
	40		82	66	
654691	1	7.2	10	18	2003
	4		28	53	
	10		63	61	
	40		95	65	
654999	1	3.4	0	13	238
	4		37	62	
	10		70	65	
	40		93	67	

【0630】

血漿中化学マーカー、処置#2

10日目に、アンチセンスオリゴヌクレオチドの肝機能及び腎機能に対する作用を評価するために、臨床化学自動分析装置（Hitachi Olympus AU400e（Melville, NY））を使用して、アミノ基転移酵素、ビリルビン及びBUNの血漿中レベルを測定した。結果を表38に示す。

【0631】

【表 3 9】

表 3 8

トランスジェニック h u A G T マウスにおける血漿中化学マーカー

ISIS 番号	mg/kg	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dL)	総ビリルビン (mg/dL)
PBS	n/a	34	62	29	0.12
568637	1	29	50	25	0.08
	4	37	54	31	0.11
	10	44	54	29	0.12
	40	39	52	27	0.12
620003	1	32	59	27	0.16
	4	44	53	34	0.10
	10	40	60	29	0.14
	40	33	34	26	0.11
654451	1	38	49	30	0.12
	4	33	49	30	0.13
	10	35	45	29	0.11
	40	33	38	29	0.12
654472	1	39	69	28	0.17
	4	31	54	30	0.11
	10	30	70	30	0.15
	40	33	41	30	0.10
654691	1	39	79	32	0.11
	4	35	54	29	0.12
	10	34	44	32	0.12
	40	37	43	30	0.14
654999	1	34	56	31	0.11
	4	38	51	32	0.13
	10	29	53	33	0.09
	40	30	42	28	0.09

【0 6 3 2】

処置 # 3

3点用量反応試験のために、5つの強力なヒトAGT標的化アンチセンスオリゴヌクレオチド（ISIS番号568637、594622、594624、594625及び594627）を先の用量反応試験から選択した。この試験では、h u A G T マウスをマウス各3匹からなる16群に分けた。これらの群に、1週間にわたって、アンチセンスオリゴヌクレオチドの皮下注射を1、5及び15mg/kgの用量で2回の注射により行った。h u A G T マウス3匹の1群に生理食塩水の皮下注射を行い、これをオリゴヌクレオチド処置群と比較する対照群とした。

【0 6 3 3】

RNA分析、処置 # 3

8日目に、ヒトAGT mRNA発現に関するリアルタイムPCR解析及び測定のために、トランスジェニックマウスの肝臓及び腎臓から全RNAを抽出した。結果を、RIBOGREEN（登録商標）により正規化した、PBS対照に対する阻害率（%）として示す。表39に示すように、ほとんどのアンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置は、PBS対照と比較して、ヒトAGT mRNAの著しい減少をもたらした。

【0 6 3 4】

【表 40】

表 39

PBS 対照と比較したトランスジェニックマウスの肝臓及び腎臓における h
u A G T m R N A の阻害率

	ISIS 番号	肝臓 ED50 AGT mRNA	mg/kg	肝臓	腎臓	配列 番号
雄	594622	2.4	1	35	76	163
			5	84	89	
			15	98	92	
	594624	3.9	1	23	10	129
			5	84	70	
			15	96	83	
	594625	1.8	1	34	15	165
			5	82	59	
			15	96	76	
	594627	1.4	1	17	71	167
			5	78	87	
			15	91	91	
	568637	3.8	1	21	10	129
			5	75	49	
			15	91	74	
雌	594625	1.7	1	45	77	165
			5	86	88	
			15	98	96	

【0635】

血漿中化学マーカー、処置 # 3

8 日目に、アンチセンスオリゴヌクレオチドの肝機能及び腎機能に対する作用を評価するために、臨床化学自動分析装置（Hitachi Olympus AU400e (Melville, NY)）を使用して、アミノ基転移酵素、総ビリルビン及び血中尿素窒素（BUN）の血漿中レベルを測定した。結果を表 40 に示す。

【0636】

【表 4 1】

表 4 0

雌及び雄のトランスジェニック h u A G T マウスにおける血漿中化学マーカー

	ISIS 番号	mg/kg	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dL)	総ビリル ビン (mg/dL)
雄		PBS	67	101	34	0.26
	594622	1	34	43	36	0.14
		5	92	151	32	0.29
		15	132	167	30	0.30
	594624	1	40	57	31	0.15
		5	46	83	35	0.12
		15	37	74	32	0.15
	594625	1	74	166	33	0.23
		5	55	67	34	0.18
		15	63	89	34	0.15
	594627	1	36	96	34	0.12
		5	40	67	33	0.13
		15	57	62	30	0.13
	568637	1	38	69	33	0.14
		5	33	48	32	0.15
		15	74	81	28	0.14
雌		PBS	39	61	33	0.17
	594625	1	53	91	29	0.22
		5	276	304	28	0.25
		15	60	77	29	0.21

10

20

30

【0 6 3 7】

体重及び器官重量、処置 # 3

トランスジェニックマウスの体重を 1、8 及び 13 日目に測定した。各群の平均を以下の表に示す。また、15 日目に、肝臓、脾臓及び腎臓の重量を測定した。これを表 4 1 に示す。

【0 6 3 8】

【表 4 2】

表 4 1

体重及び器官重量（グラム単位）

	ISIS 番号	mg/kg	体重 (g)		腎臓 (g)	肝臓 (g)	脾臓 (g)
			1 日 目	6 日 目			
雄		PBS	23.6	23.9	0.33	1.3	0.08
	594622	1	23.3	23.7	0.30	1.3	0.07
		5	22.7	23.5	0.34	1.4	0.09
		15	23.9	24.4	0.33	1.8	0.08
	594624	1	24.9	26.0	0.35	1.4	0.08
		5	23.8	24.6	0.33	1.4	0.09
		15	23.7	24.2	0.33	1.4	0.07
	594625	1	23.3	23.7	0.31	1.3	0.07
		5	22.1	23.0	0.30	1.4	0.08
		15	23.8	24.6	0.32	1.6	0.09
	594627	1	22.8	23.8	0.31	1.3	0.07
		5	23.8	23.9	0.32	1.4	0.08
		15	21.2	21.7	0.29	1.4	0.07
	568637	1	22.6	23.3	0.30	1.3	0.08
		5	22.7	22.9	0.31	1.2	0.07
		15	23.0	23.6	0.31	1.4	0.08
雌		PBS	17.6	18.0	0.25	1.0	0.07
	594625	1	18.2	18.4	0.24	1.0	0.08
		5	18.0	18.8	0.25	1.1	0.08
		15	19.2	19.7	0.28	1.2	0.09

10

20

【0 6 3 9】

実施例 5：9つの有力な A G T 標的化アンチセンスオリゴヌクレオチドの粘度評価

30

4 0 c P を超える粘度を有するアンチセンスオリゴヌクレオチドをスクリーニングして除去する目的で、9つのアンチセンスオリゴヌクレオチドの粘度を測定した。4 0 c P を超える粘度を有するオリゴヌクレオチドは、いずれの対象への投与にも粘度が高すぎると考えられる。

【0 6 4 0】

アンチセンスオリゴヌクレオチド（3 2 ～ 3 5 m g）をガラスバイアル中に秤量し、水 1 2 0 μ L を加え、バイアルを 5 0 ° C で加熱することによってアンチセンスオリゴヌクレオチドを溶液中に溶解した。予熱した試料の一部（7 5 μ L）をマイクロ粘度計（C a m b r i d g e）にピペットで分注した。マイクロ粘度計の温度を 2 5 ° C に設定し、試料の粘度を測定した。予熱した試料の別の部分（2 0 μ L）を、8 5 ° C、2 6 0 n M の U V

40

読み取りのために（C a r y U V 機器）、水 1 0 m L 中にピペットで分注した。結果を表 4 2 に示す。結果は、試験したアンチセンスオリゴヌクレオチドが 4 0 c P の粘度を超えないことを示している。

【0 6 4 1】

【表 4 3】

表 4 2

A G T を標的にする A S O の粘度データ

ISIS 番号	化学的構造	cP
619998	5-10-5 MOE	29
620003	5-10-5 MOE	12
654451	5-10-5 MOE	25
654452	5-10-5 MOE	13
654472	5-10-5 MOE	11
654481	5-10-5 MOE	12
654483	5-10-5 MOE	28
654691	3-10-4 MOE	23
654999	5-8-7 MOE	34

10

【0 6 4 2】

20

実施例 6：9つの有力なヒト A G T 標的化アンチセンスオリゴヌクレオチド（A S O）の C D 1 マウスにおける忍容性

C D 1（登録商標）マウス（C h a r l e s R i v e r, M A）は、多目的マウスモデルであり、安全性及び有効性試験によく利用されている。上記試験から選択したアンチセンスオリゴヌクレオチドでマウスを処置し、種々の血漿中化学マーカーのレベル変化について評価した。

【0 6 4 3】

上記の実施例で特定した 9つのアンチセンスオリゴヌクレオチドを C D 1 マウスにおける忍容性について試験した。マウスを 1 群あたりマウス 4 匹の群に分け、5 0 m g / k g のアンチセンスオリゴヌクレオチドを週 2 回、6 週間、皮下注射した（1 0 0 m g / k g / 週の用量）。雄の C D 1 マウスの一群に、P B S を週 2 回、6 週間、皮下注射した。最終投与から 4 8 時間後にマウスを安楽死させ、更なる分析のために器官及び血漿を採取した。

30

【0 6 4 4】

体重及び器官重量

A S O 処置 C D 1 マウスの体重を毎週測定した。4 3 日目に、マウスを屠殺し、器官を摘出し、重量を測った。試験終了時の体重及び器官重量をグラム単位（g）で表 4 3 に示す。

【0 6 4 5】

【表 4 4】

表 4 3

9 つの有力な A S O で処置した C D 1 マウスの体重及び器官重量（グラム）

ISIS 番号	体重 41 日目	肝臓	腎臓	脾臓
PBS	39.1	2.2	0.7	0.2
619998	42.5	2.5	0.6	0.3
620003	38.9	2.5	0.6	0.2
654451	31.6	1.8	0.5	0.1
654452	37.1	2.3	0.6	0.2
654472	37.2	2.3	0.6	0.1
654481	37.7	2.2	0.6	0.2
654483	35.1	2.3	0.6	0.2
654691	37.5	2.3	0.7	0.3
654999	35.9	2.2	0.5	0.5

10

【0 6 4 6】

血漿中化学マーカー

オリゴヌクレオチドの肝機能及び腎機能に対する作用を評価するために、臨床化学自動分析装置（Hitachi Olympus AU400e (Melville, NY)）を使用して、ALT（アラニンアミノ基転移酵素）及びAST（アスパラギン酸アミノ基転移酵素）、ビリルビン、クレアチニンならびにBUNの血漿中レベルを測定した。結果を、各群について平均し、各項目について表 4 4 に示す。

20

【0 6 4 7】

【表 4 5】

表 4 4

C D 1 マウスにおける血漿中化学マーカー

ISIS 番号	化合物	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dL)	クレアチニン (mg/dL)	総ビリルビン (mg/dL)
PBS	N/A	25	41	28	0.15	0.14
619998	5-10-5 MOE	79	124	28	0.16	0.12
620003	5-10-5 MOE	30	46	29	0.16	0.14
654451	5-10-5 MOE	46	84	22	0.08	0.16
654452	5-10-5 MOE	122	182	25	0.10	0.11
654472	5-10-5 MOE	50	65	29	0.11	0.11
654481	5-10-5 MOE	35	50	25	0.08	0.14
654483	5-10-5 MOE	107	108	25	0.09	0.17
654691	3-10-4 MOE	95	109	25	0.11	0.13
654999	5-8-7 MOE	71	135	28	0.11	0.10

30

40

【0 6 4 8】

別個の実験で、アンチセンス化合物 I S I S 5 6 8 6 3 7、5 9 4 6 2 2、5 9 4 6 2 4、5 9 4 6 2 5 及び 5 9 4 6 2 7 についても C D 1 マウスで試験したが、いくつかの忍容性の問題を呈したため、この試験は早々に終了した。

【0 6 4 9】

実施例 7：9 つの有力なヒト A G T 標的化アンチセンスオリゴヌクレオチド（A S O）のスプラッグドローラーラットにおける忍容性

スプラッグドローラー（S D）ラットは、安全性及び有効性評価に使用される多目的モデ

50

ルである。上記実施例に記載した試験から選択した9つのアンチセンスオリゴヌクレオチドでSDラットを処置し、種々の血漿中化学マーカーのレベル変化について評価した。

【0650】

処置

雄のSDラットを12時間の明暗サイクルで飼育し、Purina通常ラット用飼料を不断給餌した。ラットを1群あたりラット4匹の群に分け、各群に100mg/kg/週で、6週間、皮下注射した。最終投与から48時間後にラットを安楽死させ、更なる分析のために器官及び血漿を採取した。

【0651】

器官重量

アンチセンスオリゴヌクレオチドで処置したラットの肝臓、脾臓及び腎臓の重量を試験終了時に測定した。体重及び器官重量をグラム単位で表45に示す。

【0652】

【表46】

表45

9つの有力なASOで処置したスプラグドローラットの体重及び器官重量（グラム）

ISIS 番号	体重	腎臓	肝臓	脾臓
619998	333	3.0	12.1	2.6
620003	361	2.9	11.7	1.4
654451	316	2.7	13.4	1.5
654452	320	2.5	11.6	0.9
654472	361	3.0	13.1	1.5
654481	370	3.2	11.4	1.3
654483	366	3.3	13.5	1.2
654691	288	3.1	14.3	2.1
654999	344	2.7	11.5	2.0

【0653】

肝機能及び腎機能

9つのアンチセンスオリゴヌクレオチドの肝機能及び腎機能に対する作用を評価するために、臨床化学自動分析装置（Hitachi Olympus AU400e（Melville, NY））を使用して、ALT（アラニンアミノ基転移酵素）及びAST（アスパラギン酸アミノ基転移酵素）、アルブミン、BUN、クレアチニンならびにビリルビンの血漿中レベルを測定した。また、総尿蛋白及び尿クレアチニンレベルを測定し、総尿蛋白とクレアチニンの比（P/C比）を求めた。

【0654】

各群の結果を平均し、各項目について表46に示す。

【0655】

【表 4 7】

表 4 6

スプラッグドローリーラットにおける肝機能及び腎機能マーカー

ISIS 番号	化合物	血 漿						尿		
		ALT (U/L)	AST (U/L)	アルブ ミン (g/dL)	BUN (mg/dL)	クレア チニン (mg/dL)	総ビリ ルビン (mg/dL)	クレア チニン (mg/dL)	総蛋白 (mg/dL)	尿 中 P/C 比
PBS	N/A	28	72	3.2	19	0.28	0.08	86	88	1
619998	5-10-5 MOE	57	125	2.8	28	0.31	0.10	76	251	3
620003	5-10-5 MOE	54	106	3.1	25	0.30	0.09	81	356	4
654401	5-10-5 MOE	69	136	3.3	25	0.36	0.12	64	343	6
654451	5-10-5 MOE	62	149	2.8	28	0.28	0.10	37	209	6
654452	5-10-5 MOE	159	196	3.0	30	0.34	0.11	44	356	8
654472	5-10-5 MOE	44	98	3.1	28	0.36	0.09	69	413	6
654481	5-10-5 MOE	43	101	3.2	26	0.37	0.09	56	323	6
654483	5-10-5 MOE	42	87	3.0	28	0.30	0.08	54	360	6
654691	3-10-4 MOE	41	94	2.7	31	0.31	0.08	40	237	6
654999	5-8-7 MOE	40	120	2.8	28	0.30	0.09	47	335	7

10

20

【0 6 5 6】

組織学

アンチセンスオリゴヌクレオチドで処置したラットの肝臓及び腎臓を顕微鏡で検査したが、処置に関連する顕著な有害な所見は観察されなかった。

【0 6 5 7】

別個の試験で、アンチセンス化合物 I S I S 5 6 8 6 3 7、5 9 4 6 2 2、5 9 4 6 2 4、5 9 4 6 2 5 及び 5 9 4 6 2 7 についても S D ラットで試験したが、いくつかの忍容性の問題を呈したため、この試験は早々に終了した。

【0 6 5 8】

実施例 8：9つの有力なヒト A G T 標的化アンチセンスオリゴヌクレオチド（A S O）のカニクイザル肝細胞における効力

本試験に着手した時点で、カニクイザルのゲノム配列は、国立生物工学情報センター（N C B I）データベースで入手できなかったため、カニクイザル遺伝子配列との交差反応性は確認できなかった。その代わりに、相補性について、カニクイザルで使用したアンチセンスオリゴヌクレオチドの配列をアカゲザル配列と比較した。アカゲザル配列に対して相補性を有するアンチセンスオリゴヌクレオチドは、カニクイザル配列とも十分に交差反応性であると予想される。

【0 6 5 9】

試験したヒトアンチセンスオリゴヌクレオチドは、アカゲザルゲノム配列（本明細書において配列番号 7 として示される、G E N B A N K アクセッション番号 NW_001109259.1 からヌクレオチド 16090000～16106000 を切り出したもの）と最大 3 つのミスマッチを有した。ヒトオリゴヌクレオチドとアカゲザル配列との間の相補性が大きいほど、そのヒトオリゴヌクレオチドは、アカゲザル配列及びカニクイザル配列と交差反応性できる可能性が高くなる。配列番号 7 に対する各オリゴヌクレオチドの開始部位及び終止部位を表 4 7 に示す。「開始部位」は、ギャップマーが標的にするアカゲザル遺伝子配列中の最も 5' 側のヌクレオチドを示す。

40

【0 6 6 0】

先の試験で A G T m R N A の著しい阻害及び忍容性を示した 9 つのアンチセンスオリゴヌクレオチドを選択し、凍結保存された個々の雄のカニクイザル初代肝細胞において種

50

々の用量で試験した。これらの9つの有力なアンチセンスオリゴヌクレオチドを以下の表に記載する。

【0661】

【表48】

表47

アカゲザルAGTゲノム配列（配列番号7）に対するASO相補性

ISIS番号	標的開始部位	標的終止部位	配列	化学的構造	アカゲザルにおけるミスマッチ数	配列番号
619998	13777	13796	TCGGTTGGAATTCTTTTGG	5-10-5 MOE	0	1714
620003	13792	13811	TCACAAACAAGCTGGTCGGT	5-10-5 MOE	0	1719
654451	N/A	N/A	TGGAACAGTAGTCCCGCGCT	5-10-5 MOE	2	1893
654452	N/A	N/A	TTGGAACAGTAGTCCCGCGC	5-10-5 MOE	2	1894
654472	13791	13810	CACAAACAAGCTGGTCGGTT	5-10-5 MOE	0	1914
654481	13822	13841	CTCAACTTGAAAAGGGAACA	5-10-5 MOE	0	1923
654483	13825	13844	GTTCTCAACTTGAAAAGGGA	5-10-5 MOE	0	1925
654691	N/A	N/A	TCGCTGATTTGTCCGGG	3-10-4 MOE	3	2003
654999	N/A	N/A	ACACATCGCTGATTTGTCCG	5-8-7 MOE	3	238

10

20

【0662】

カニクイザル初代肝細胞を35,000細胞/ウェルの密度で培養し、エレクトロポレーションを使用して、以下の表48に明示するように、0.156 μM、0.313 μM、0.625 μM、1.25 μM、2.5 μM、5.0 μM、10.0 μM及び20.0 μM濃度のアンチセンスオリゴヌクレオチドをトランスフェクトした。約24時間の処置期間後、細胞を洗浄し、溶解し、RNAを単離した。サルAGT mRNAレベルを、プライマープローブセットRTS4039を使用して、定量リアルタイムPCRによって測定した。RIBO GREEN（登録商標）によって測定した全RNA含量に従ってAGT mRNA標的レベルを調整した。無処置の対照細胞に対するAGTの阻害率（%）として結果を示す。

30

【0663】

【表49】

表48

カニクイザル由来初代肝細胞における用量反応

ISIS番号	0.156 μM	0.313 μM	0.625 μM	1.25 μM	2.5 μM	5.0 μM	10.0 μM	20.0 μM	IC50 (μM)	配列 番号
619998	3	1	0	13	20	31	36	64	13.9	1714
620003	9	7	15	27	30	62	76	80	3.0	1719
654451	13	24	20	30	38	42	47	29	10.6	1893
654452	13	13	25	47	44	41	62	35	>20	1894
654472	12	24	22	37	39	55	74	78	3.4	1914
654481	0	14	27	26	43	48	53	45	>20	1923
654483	25	24	39	46	61	50	56	61	3.2	1925
654691	0	12	18	0	23	18	19	24	>20	2003
654999	0	19	0	0	9	17	37	42	>20	238

40

【0664】

アンチセンスオリゴヌクレオチド処置細胞では、ほとんどのサルAGT mRNAレベ

50

ルが用量依存的に著しく減少した。

【0665】

実施例9：ヒトAGTを標的にするアンチセンスオリゴヌクレオチドのカニクイザルにおける効果

12週間の用量反応試験において、上記実施例に記載した試験から選択した9つのアンチセンスオリゴヌクレオチドでカニクイザルを処置した。アンチセンスオリゴヌクレオチドの有効性及び忍容性ならびに肝臓及び腎臓におけるその薬物動態プロファイルを評価した。

【0666】

処置

試験に先立って、サルを隔離状態に置き、その期間中、全般的な健康状態について動物を毎日観察した。サルは2～4歳で、体重は2～4kgであった。無作為に割り当てた5匹の雄のカニクイザルの10群のそれぞれに、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはPBSを皮下注射した。サルには、合計15回の投与で、40mg/kg/週のアンチセンスオリゴヌクレオチドを週1回、12週間投与した（サルは第1週及び第2週に40mg/kgを2回投与する負荷処置を受けた）。対照群のカニクイザルには類似の方法でPBSを注射し、これを対照群とした。

【0667】

試験期間中、疾病または苦痛の徴候についてサルを1日2回観察した。治療、外傷または疾病に起因する一時的または軽微な程度を越える疼痛または苦痛を経験する動物は、獣医スタッフが、試験責任者と相談後、承認された鎮痛薬または痛みを緩和する薬を用いて治療した。更なるモニタリング及び安楽死の可能性を要する、健康状態の悪い動物または瀕死状態であり得る動物を特定した。12週間の試験の最後に、サルを屠殺し、器官を取り出した。実施例に記載のプロトコルは、動物実験委員会（IACUC）による承認を受けたものである。

【0668】

体重及び器官重量

体重を毎週評価したが、アンチセンスオリゴヌクレオチドの体重に対する顕著な作用は観察されなかった。77日目に体重を測定し、79日目に器官重量を測定した。これを以下の表49に示す。

【0669】

【表50】

9つの有力なASOで処置したカニクイザルの体重及び器官重量（グラム）

ISIS 番号	重量(g)				
	体重 (77日目)	心臓	腎臓	肝臓	脾臓
PBS	2524	10.2	12.2	51.8	2.7
619998	2520	9.3	23.4	73.9	4.4
620003	2638	9.5	14.5	67.8	3.3
654451	2488	9.4	15.9	68.5	3.0
654452	2510	9.8	14.2	60.8	3.1
654472	2623	9.8	14.8	62.1	4.0
654481	2549	9.6	14.2	59.8	4.0
654483	2525	10.0	15.8	68.6	4.0
654691	2497	8.8	15.3	67.9	4.3
654999	2590	10.1	16.6	69.1	5.7

【0670】

薬力学

試験中、分析のために血漿、血清及び尿を採取した。9つの有力なアンチセンスオリゴヌクレオチドの肝機能及び腎機能に対する作用を評価するために、79日目に、臨床化学自動分析装置（Hitachi Olympus AU400e（Melville, NY））を使用して、ALT（アラニンアミノ基転移酵素）及びAST（アスパラギン酸アミノ基転移酵素）、BUNならびにビリルビンの血漿中レベルを測定した。表50に示すように、ALT、AST、BUN及びビリルビンに対する著しい作用は観察されなかった。

【0671】

【表51】

表50

アンチセンスオリゴヌクレオチドで処置したサルにおける血漿中化学マーカー

ー

ISIS 番号	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dL)	総ビリル ビン (mg/dL)
PBS	54	87	25.1	0.20
619998	74	98	36.6	0.16
620003	53	87	24.9	0.16
654451	61	74	30.1	0.13
654452	63	100	25.8	0.20
654472	62	77	27.1	0.16
654481	58	63	21.7	0.16
654483	70	78	25.0	0.14
654691	57	97	26.4	0.14
654999	62	111	23.2	0.14

【0672】

更に、ECG、血圧、血漿電解質、蛋白尿、炎症反応（例えば、CRPレベル）または腎臓蓄積における著しい変化は、観察されなかった。概して、アンチセンスオリゴヌクレオチドは良好な忍容性を示した。

【0673】

RNA分析

試験の最後に、AGTのmRNA発現を測定するリアルタイムPCR解析のために、サルの肝臓及び腎臓からRNAを抽出した。プライマープローブセットRTS4039を使用した。各群の結果を平均し、RIBOGREEN（登録商標）により正規化した、PBS対照に対するmRNA阻害率（%）として示す。表51に示すように、アンチセンスオリゴヌクレオチドによる処置は、AGT mRNAレベルに異なる効果をもたらした。

【0674】

10

20

30

【表 5 2】

表 5 1

PBS 対照と比較したカニクイザルの肝臓における AGT mRNA の阻害率

ISIS 番号	阻害率	配列番号
619998	75	1714
620003	40	1719
654451	33	1893
654452	0	1894
654472	9	1914
654481	1	1923
654483	38	1925
654691	36	2003
654999	3	238

10

【0675】

実施例 10 : GalNAc コンジュゲート化アンチセンスオリゴヌクレオチドの CD-1 マウスにおける忍容性

上記試験から有力候補 (ISIS 654472) の 5'-10-5 完全ホスホロチオエート MOE ギャップマーを選択し、これを、同じヌクレオチド配列を有するが、以下の表 5 2 に記載するように主鎖構造が異なる、6 つの 5'-トリスヘキシルアミノ- (THA)-C6-GalNAc₃ (別名「GalNAc」)-コンジュゲート化 5'-10-5 MOE ギャップマーの設計のベースとして使用した。「s」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。「o」は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合である。「A」は、アデニン核酸塩基である。「mC」は、5'-メチルシトシン核酸塩基である。「G」は、グアニン核酸塩基である。「T」は、チミン核酸塩基である。「e」は、MOE 修飾を示す。「d」は、デオキシリボースを示す。

20

【0676】

【表 5 3】

表 5 2

G a l N A c -コンジュゲート化 A S O 及び非コンジュゲート化親 A S O

ISIS 番号	化学的構造表記		配列 番号
654472 (親)	mCes Aes mCes Aes Aes Ads mCds Ads Ads Gds mCds Tds Gds Gds Tds mCes Ges Ges Tes Te	(PS)	1914
757456	mCes Aes mCes Aes Aes Ads mCds Ads Ads Gds mCds Tds Gds Gds Tds mCes Ges Ges Tes Te	(PS) GalNAc	1914
757457	mCes Aeo mCeo Aeo Aeo Ads mCds Ads Ads Gds mCds Tds Gds Gds Tds mCeo Geo Ges Tes Te	(混合主鎖) GalNAc	1914
775493	mCes Aeo mCeo Aeo Aes Ads mCds Ads Ads Gds mCds Tds Gds Gds Tds mCeo Geo Ges Tes Te	(混合主鎖) GalNAc	1914
775494	mCes Aes mCeo Aeo Aes Ads mCds Ads Ads Gds mCds Tds Gds Gds Tds mCeo Geo Ges Tes Te	(混合主鎖) GalNAc	1914
775495	mCes Aeo mCes Aeo Aes Ads mCds Ads Ads Gds mCds Tds Gds Gds Tds mCeo Ges Geo Tes Te	(混合主鎖) GalNAc	1914
775496	mCes Aes mCeo Aes Aes Ads mCds Ads Ads Gds mCds Tds Gds Gds Tds mCes Geo Ges Tes Te	(混合主鎖) GalNAc	1914

10

20

【0 6 7 7】

3点用量反応試験のために、C D 1 マウス 4 匹からなる 1 6 群のそれぞれに、4 週間にわたって、1 0 m g / k g / 週の G a l N A c -コンジュゲート化アンチセンスオリゴヌクレオチドを皮下注射した。マウスの一群に、P B S を週 2 回、6 週間、皮下注射した。A S O 処置 C D 1 マウスの体重を毎週測定した。最終投与から 4 8 時間後にマウスを安楽死させ、更なる分析のために器官及び血漿を採取した。血漿及び尿を採取し、アンチセンスオリゴヌクレオチドの肝機能及び腎機能に対する作用を評価するために、臨床化学自動分析装置 (H i t a c h i O l y m p u s A U 4 0 0 e (M e l v i l l e , N Y)) を使用して、アミノ基転移酵素、ビリルビン及び B U N の血漿中レベルを測定した。実験終了時に、肝臓、腎臓及び脾臓を摘出し、重量を測った。

30

結果を、各群について平均し、表 5 3 に示す。

【0 6 7 8】

40

【表 5 4】

表 5 3

G a l N A c -コンジュゲート化 A S O で処置した C D 1 マウスにおける血漿中化学マーカー

ISIS 番号	mg/kg	重量 (g)				ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dL)	総ビリルビン (mg/dL)
		体重 (29 日目)	腎臓	肝臓	脾臓				
PBS	n/a	36.1	0.58	2.1	0.1	31	41	25.8	0.14
757456	20	39.3	0.64	2.5	0.1	28	31	24.2	0.18
	10	38.1	0.56	2.3	0.1	38	74	24.8	0.22
	5	36.1	0.54	2.1	0.1	39	59	27.7	0.21
757457	20	40.6	0.59	2.4	0.2	34	38	26.2	0.23
	10	38.7	0.60	2.2	0.1	24	29	23.1	0.26
	5	39.1	0.58	2.2	0.2	39	46	29.0	0.20
775493	20	36.3	0.59	2.0	0.1	36	51	28.3	0.21
	10	38.6	0.58	2.2	0.1	30	45	25.0	0.34
	5	37.1	0.58	2.3	0.1	23	32	26.5	0.15
775494	20	37.9	0.56	2.0	0.2	47	55	29.1	0.31
	10	36.4	0.59	2.1	0.3	25	34	25.4	0.20
	5	38.4	0.59	2.0	0.1	35	69	24.9	0.21
775495	20	39.3	0.67	2.3	0.2	42	86	23.7	0.19
	10	37.0	0.55	2.1	0.1	34	44	25.1	0.21
	5	38.1	0.62	2.2	0.1	20	28	22.5	0.28
775496	20	37.0	0.58	2.1	0.2	32	38	24.7	0.15
	10	36.4	0.59	1.9	0.2	38	42	25.0	0.24
	5	36.7	0.56	2.1	0.1	23	28	25.6	0.34

10

20

30

【0 6 7 9】

実施例 1 1 : G a l N A c コンジュゲート化 A S O の S D ラットにおける忍容性

2 8 匹の雄の S D ラットを、1 群あたりラット 4 匹の 7 群に分けた。ラットに、4 週間にわたって、P B S (無処置対照) または 1 0 m g / k g / 週の G a l N A c コンジュゲート化アンチセンスオリゴヌクレオチドを皮下注射した。

【0 6 8 0】

血漿及び尿を採取し、臨床化学自動分析装置 (H i t a c h i O l y m p u s A U 4 0 0 e (M e l v i l l e , N Y)) を使用して分析して、アンチセンスオリゴヌクレオチドの肝機能及び腎機能に対する作用を評価した。実験終了時に、肝臓、腎臓及び脾臓を摘出し、重量を測った。

40

【0 6 8 1】

結果を各群動物 4 匹の平均として示し、表 5 4 に示す。

【0 6 8 2】

【表 5 5】

表 5 4

G a l N A c -コンジュゲート化 A S O の S D ラットにおける忍容性

Tx	血漿				尿			重量 (g)			
	ALT	AST	BUN	総ビリルビン	クレアチニン	MTP	MTP / クレアチニン	体重 (30 日目)	腎臓	肝臓	脾臓
PBS	29	76	17	0.08	95.8	106.8	0.99	395	3.1	11.2	0.70
757456	42	103	19	0.12	55.5	65.3	1.24	387	3.0	11.1	0.84
757457	36	84	18	0.08	82.8	103.0	1.13	396	3.0	11.2	0.69
775493	42	102	16	0.14	66.0	85.3	1.29	407	3.3	12.3	0.78
775494	43	84	17	0.09	91.3	119.0	1.34	396	2.8	10.7	0.89
775495	37	92	17	0.10	65.0	70.3	1.01	387	3.0	10.4	0.81
775496	36	90	16	0.08	58.3	92.8	1.39	397	3.1	11.7	0.91

10

【0683】

実施例 12：非コンジュゲート化アンチセンスオリゴヌクレオチドと G a l N A c コンジュゲート化アンチセンスオリゴヌクレオチドの雄及び雌の h u A G T マウスにおける用量反応比較

先の実施例に記載したように、h u A G T マウスは、アンチセンスオリゴヌクレオチドの効力を試験するのに有用である。親 5-10-5 M O E ギャップマー (I S I S 6 5 4 4 7 2) と、同じ配列を有する G a l N A c コンジュゲート化化合物 (I S I S 7 5 7 4 5 6) との用量反応比較を実施した。表 5 5 に示すように、G a l N A c コンジュゲート化アンチセンスオリゴヌクレオチドは、非コンジュゲート化アンチセンスオリゴヌクレオチドよりも 8 倍強力である。

20

【0684】

【表 5 6】

表 5 5

コンジュゲート化 A S O 対非コンジュゲート化 A S O の用量反応

	mg/kg	ED50 AGT mRNA	肝臓 阻害率 (%)	腎臓 阻害率 (%)	血漿中 AGT タンパク 質減少率 (%)
雌	生理 食塩 水	n/a	0	0	0
654472 (親)	2.5	24	15	4	0
	8		17	26	8
	25		48	38	31
	80		76	51	70
757456 (GalNAc)	0.3	3	10	0	0
	1		19	12	15
	3		47	0	53
	10		79	7	75
雄	生理 食塩 水	n/a	0	0	2
654472 (親)	8	24	35	23	33
	25		48	36	39
	80		79	49	78
757456 (GalNAc)	1	3	19	1	17
	3		50	10	39
	10		78	20	71

10

20

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 16/56068						
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 31/7088, A61K 31/7125, A61K 9/00, C07H 21/02 (2017.01) CPC - A61K 31/7125, C12N 15/113, C12N 15/1136, C12N 2310/11 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC								
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - A61K 31/7088, A61K 31/7125, A61K 9/00, C07H 21/02 (2017.01) CPC - A61K 31/7125, C12N 15/113, C12N 15/1136, C12N 2310/11 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched CPC - C12N 2310/315, C12N 2310/3341, C12N 2310/341 (keyword limited; terms below) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatBase, Google Patents, Google Scholar Search terms: angiotensinogen, AGT, SERPINA8, ANHU, inhibit, block, antagonist, lower, decrease, silence, antisense, siRNA, RNAi, modified, oligonucleotide, polynucleotide, nucleic acid, nucleotide, nucleoside, DNA, RNA, treat, therapeutic								
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>WO 2014/018930 A1 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 30 January 2014 (30.01.2014) p 3, ln 18-20; p 16, ln 12-14; p 17, ln 17-22; SEQ ID NO: 1</td> <td>1, 3/1, 4/1, 6</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	WO 2014/018930 A1 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 30 January 2014 (30.01.2014) p 3, ln 18-20; p 16, ln 12-14; p 17, ln 17-22; SEQ ID NO: 1	1, 3/1, 4/1, 6
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.						
X	WO 2014/018930 A1 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 30 January 2014 (30.01.2014) p 3, ln 18-20; p 16, ln 12-14; p 17, ln 17-22; SEQ ID NO: 1	1, 3/1, 4/1, 6						
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐								
<table border="0"> <tr> <td> * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family				
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family							
Date of the actual completion of the international search 10 March 2017		Date of mailing of the international search report 04 APR 2017						
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 16/56068

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 5, 10-24, 26-27, 30-35
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

-----please see extra sheet-----

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1, 3-4, 6, limited to SEQ ID NO: 486

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 16/56068

Continuation of: Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I+: Claims 1-4, 6-9, 25, 28-29 drawn to a modified oligonucleotide consisting of 12 to 30 linked nucleosides having a nucleobase sequence comprising a portion of at least 8 contiguous nucleobases. The modified oligonucleotide will be searched to the extent to encompass the first named oligonucleotide that complementary to nucleobases 2250 to 2337 of SEQ ID NO: 1 (i.e. SEQ ID NO: 486). It is believed that claims 1, 3-4, 6, limited to SEQ ID NO: 486, encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass a modified oligonucleotide consisting of 12 to 30 linked nucleosides having a nucleobase sequence comprising a portion of at least 8 contiguous nucleobases complementary to SEQ ID NO: 486. Additional modified oligonucleotides will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass the first additionally elected modified oligonucleotide(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be a modified oligonucleotide comprising 12 to 30 linked nucleosides and having a nucleobase sequence comprising at least 8 contiguous nucleobases of the nucleobase sequence of SEQ ID NO: 1914, i.e. claims 2-4, 6-9, 25, 28-29, limited to SEQ ID NO: 1914.

The inventions listed as Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

The technical feature of each of the inventions listed as Group I+ is the specific modified oligonucleotide sequence recited therein. Each invention requires a modified oligonucleotide sequence, not required by any of the other inventions.

Common Technical Features

The feature shared by the inventions listed as Group I+ is a modified oligonucleotide for modulating angiotensinogen (AGT), more specifically a modified oligonucleotide consisting of 12 to 30 linked nucleosides having a nucleobase sequence comprising a portion of at least 8 contiguous nucleobases.

However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is taught by WO 2014/018930 A1 to ISIS Pharmaceuticals, Inc. (hereinafter "ISIS Pharma")

ISIS Pharma discloses a modified oligonucleotide for modulating angiotensinogen (AGT), more specifically a modified oligonucleotide consisting of 12 to 30 linked nucleosides having a nucleobase sequence comprising a portion of at least 8 contiguous nucleobases (p 2, in 23-24 "Provided herein are methods, compounds, and compositions for modulating levels of AGT mRNA and/or protein in an animal"; p 3, in 18-20 "compound comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 to 30 linked nucleosides and having a nucleobase sequence comprising at least 8 contiguous nucleobases complementary to a target segment or target region of SEQ ID NOs: 1-16 as described herein."; p 16, in 12-14 "a compound comprising a modified oligonucleotide consisting of 12 to 30 linked nucleosides, wherein the modified antisense oligonucleotide is complementary to an AGT nucleic acid").

As the technical feature was known in the art at the time of the invention, it cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

—please see continuation on next extra sheet—

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 16/56068

Continuation of: Box No. III Observations where unity of invention is lacking

Another feature shared by the inventions listed as Group I+ is wherein the modified oligonucleotide further comprises:

- a. a gap segment consisting of ten linked deoxynucleosides;
- b. a 5' wing segment consisting of five linked nucleosides;
- c. a 3' wing segment consisting of five linked nucleosides; and
- d. a GalNAc conjugate;

wherein the gap segment is positioned between the 5' wing segment and the 3' wing segment, wherein each nucleoside of each wing segment comprises a 2'-O-methoxyethyl sugar, wherein each internucleoside linkage is a phosphorothioate linkage and wherein each cytosine residue is a 5-methylcytosine.

However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is taught by ISIS Pharma in view of US 2015/0031130 A1 to Regulus Therapeutics Inc. (hereinafter 'Regulus').

ISIS Pharma further discloses wherein the modified oligonucleotide further comprises:

- a. a gap segment consisting of ten linked deoxynucleosides (p 18, in 21-22 "(i) a gap segment consisting of eight to sixteen linked deoxynucleosides");
 - b. a 5' wing segment consisting of five linked nucleosides (p 18, in 22 "(ii) a 5' wing segment consisting of two to six linked nucleosides"); and
 - c. a 3' wing segment consisting of five linked nucleosides (p 18, in 22-23 "(iii) a 3' wing segment consisting of two to six linked nucleosides");
- wherein the gap segment is positioned between the 5' wing segment and the 3' wing segment (p 18, in 23-24 "wherein the gap segment is positioned immediately adjacent to and between the 5' wing segment and the 3' wing segment"), wherein each nucleoside of each wing segment comprises a 2'-O-methoxyethyl sugar (p 18, in 24-25 "wherein each nucleoside of each wing segment comprises a 2'-O-methoxyethyl sugar"), wherein each internucleoside linkage is a phosphorothioate linkage (p 18, in 25-26 "wherein each internucleoside linkage is a phosphorothioate linkage."), and wherein each cytosine residue is a 5-methylcytosine (p 45, in 1-2 "In certain embodiments, the modified nucleobase is 5-methylcytosine. In certain embodiments, each cytosine is a 5-methylcytosine.").

ISIS Pharma does not teach that the modified oligonucleotide further comprises a GalNAc conjugate. However, Regulus discloses that the membrane transport and resulting potency of modified oligonucleotide can be improved by conjugating the modified oligonucleotide to a ligand such as GalNAc (para [0195] "Modified oligonucleotides may be conjugated to one or more moieties which improve delivery to the target cell or tissue and/or cellular uptake of the oligonucleotide, ultimately resulting in enhanced potency. For example, increased cellular uptake of compounds may be achieved by utilizing conjugates that are ligands for cell-surface receptors. The binding of a ligand conjugated to an exogenous molecule (e.g., a drug) to its cell surface receptor leads to receptor-mediated endocytosis of the conjugated molecule, thereby facilitating transmembrane transport of the exogenous molecule. . . . By improving delivery in this manner, the potency of the modified oligonucleotide can be enhanced, as a lower dose of compound is required to achieve the desired pharmacological endpoint"; para [0011] "In certain embodiments, a scaffold links 2, 3, 4, or 5 ligands to a modified oligonucleotide"; para [0027] "In certain embodiments, each ligand is N-acetylgalactosamine [GalNAc]"). One of ordinary skill in the art therefore would have found it obvious to conjugate a GalNAc, as taught by Regulus, to the modified oligonucleotide of ISIS Pharma, in order to improve the pharmacological potency of the modified oligonucleotide.

As the technical feature was known in the art at the time of the invention, it cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Groups I+ therefore lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P 9/12

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA

(74)代理人 100120112

弁理士 中西 基晴

(74)代理人 100163784

弁理士 武田 健志

(72)発明者 ムリック, アダム

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールスバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

(72)発明者 グラハム, マーク・ジェイ

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールスバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

(72)発明者 セス, プニット・ピー

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールスバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

(72)発明者 フレアー, スーザン・エム

アメリカ合衆国カリフォルニア州 9 2 0 1 0, カールスバッド, ガゼル・コート 2 8 5 5

F ターム(参考) 4C057 BB05 CC03 DD01 MM04 MM09

4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA42 ZC01